

## Le récepteur à insuline

Dans le cadre du diabète NID, notamment dans le cas de l'insulinorésistance, le récepteur de l'insuline revêt une grande importance.

### STRUCTURE

Ce récepteur est constitué de 4 peptides glycosylés reliés par des ponts disulfures. Ils forment une glycoprotéine de 400 kDa. On distingue deux paires de sous-unités : deux sous-unités transmembranaires (80 kDa) ont une activité enzymatique de protéine kinase, et deux sous-unités (120 kDa) sont à la surface de la membrane cellulaire (constituant ainsi un ectomère) et assurent la fixation de l'hormone grâce à leur partie glucidique. L'ensemble des 4 sous-unités a une forme cylindrique et appartient à la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase qui sont tous composés de plusieurs domaines fonctionnellement distincts. Ces molécules exercent leur activité sur les protéines comportant un domaine SH2. Ces derniers permettent l'appariement des molécules, ce qui peut démasquer, par exemple, un site enzymatique. Ces domaines de liaison, sans activité enzymatique, peuvent fonctionner comme des connecteurs multiples contribuant à la réalisation d'un réseau moléculaire de signalisation. Chaque domaine SH2 comprend une région s'appariant à toute tyrosine phosphorylée et une région variable reconnaissant un motif de 3 acides aminés voisin de cette tyrosine et assurant la spécificité de la relation récepteur -domaine SH2.

**Les sous-unités  $\alpha$**  sont constituées au niveau de leur site de liaison avec l'insuline (N terminal) de deux domaines nommés L1 et L2 possédant une structure en feuillet  $\beta$ , simple brin dextrogyre, séparées par un domaine riche en cystéine. Après L2, la séquence de la sous unité montre l'existence de 3 domaines fibronectine de type III. Des mutations naturelles du domaine L1 sont responsables d'une affinité réduite du récepteur pour son ligand ou aboutissent à un fonctionnement aberrant du récepteur qui n'est plus correctement recyclé dans la cellule, se fixant à une protéine chaperonne du reticulum endoplasmique, la calnexine. Le côté C-terminal de ces sous-unités correspond à celui du site de fixation du facteur de croissance insulinoïque 1 (IGF1 - Insulin Growth Factor 1). Ces deux récepteurs dérivent donc probablement d'un ancêtre unique. La sous unité  $\alpha$  (non liée) exerce un fort effet inhibiteur sur l'activité tyrosine kinase de la sous unité  $\beta$ .

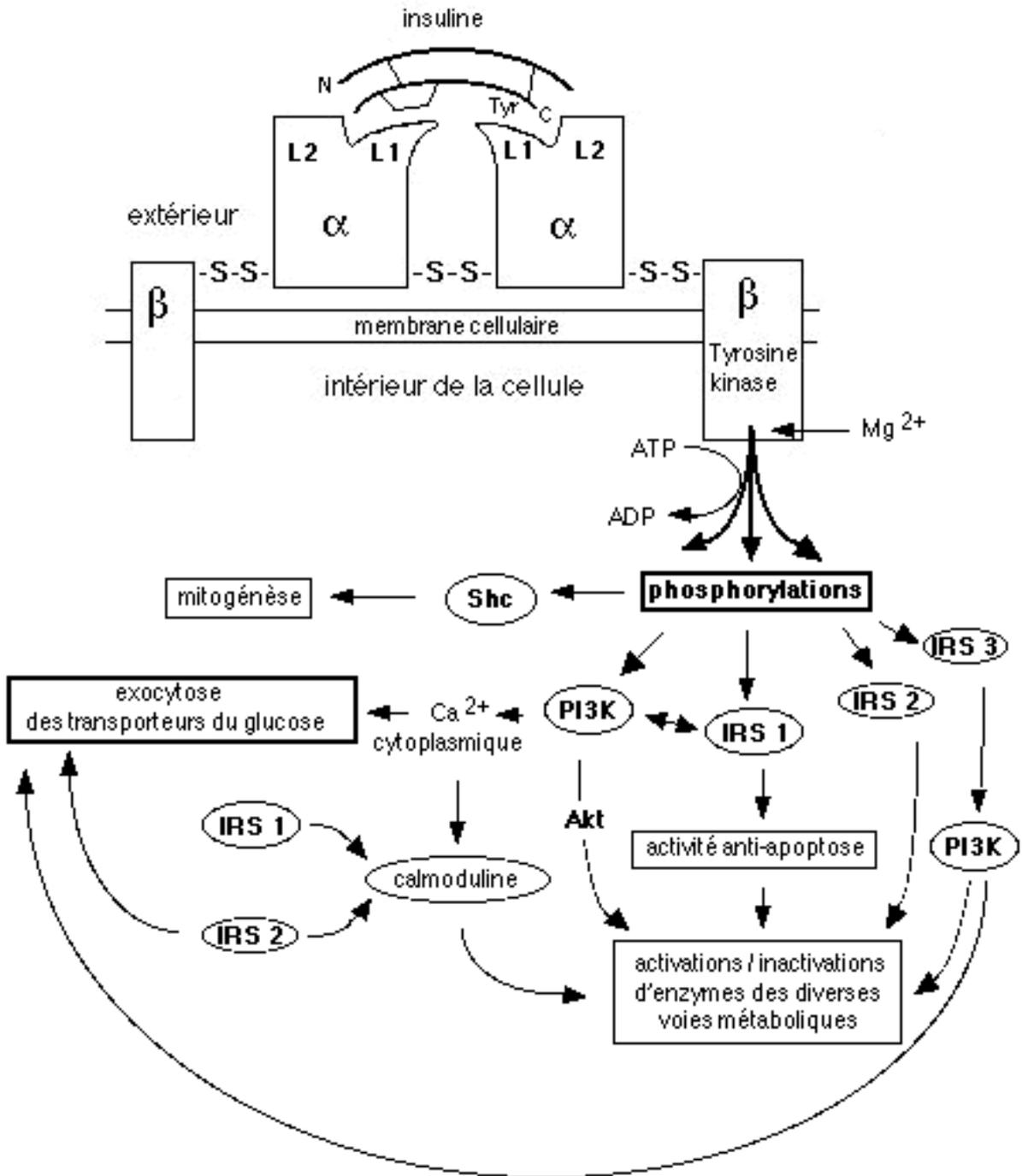
**Les sous-unités  $\beta$** , outre leur activité de protéine kinase, sont impliquées dans les effets de l'insuline en tant que facteur de croissance. Leur séquence présente des spécificités propres à l'espèce humaine: les 94 derniers acides aminés ne sont pas impliqués dans un effet anti-apoptotique, contrairement à ce qui a été constaté chez les autres mammifères. Cette absence d'effets est liée à l'absence de résidus tyrosine dans les derniers acides aminés côté COOH terminal. La séquence de ces sous-unités est homologue à 84 % à celle du récepteur de l'IGF1. Il faut noter que même sans son ligand la sous unité  $\beta$  conserve une faible activité tyrosine kinase: si le récepteur est surexprimé, cette activité résiduelle peut suffire à provoquer une translocation des transporteurs du glucose.

Il est cependant probable que les 4 sous-unités identifiées ne constituent que la majeure partie d'un complexe protéine qui reste à caractériser de façon plus complète.

Un adipocyte contient 10000 récepteurs à sa surface à un instant t, et, sans leur ligand, la demi vie de ceux ci est de l'ordre de 7 h.

### Fonctionnement du récepteur à insuline

(seule une partie des cascades de phosphorylations successives est ici représentée)



IRS: Insulin Receptor Substrate  
 PI3K: Phosphatidylinositol 3 Phosphate

## BIOSYNTHESE

Le récepteur de l'insuline est synthétisé sous forme d'un précurseur unique de 210000 Da. Clivé par une protéase, il s'intègre ensuite dans la membrane plasmique. La séquence de ce récepteur est remarquablement conservée chez tous les vertébrés: il n'existe à ce niveau pas de différence notable entre les mammifères et les poissons. La seule différence repérée est que les sous-unités du récepteur humain sont "anormalement" pauvres en tyrosine.

Ces récepteurs sont fabriqués par les cellules des tissus insulinosensibles, à savoir cellules musculaires striées, adipocytes, cellules B pancréatiques, hépatocytes... La liaison insuline-récepteur est à l'origine des effets biologiques variés de cette hormone modulés par l'activité tyrosine kinase du récepteur.

## FIXATION DE L'INSULINE

La fixation de l'insuline sur son récepteur membranaire se produit au niveau de ses 2 sous-unités. L'hélice finale NH<sub>2</sub> terminale de la chaîne A est impliquée dans la reconnaissance hormone/récepteur. Le groupement hydroxyle de la tyrosine 19 de cette chaîne assure la liaison entre celle-ci et le site de fixation ectomérique. Chaque sous-unité serait potentiellement capable de fixer une molécule d'insuline. Plusieurs molécules d'insuline peuvent se regrouper pour former des dimères (voire des hexamères) qui ont une meilleure affinité pour le récepteur que la molécule seule, mais le rôle physiologique de cette propriété semble de peu d'importance (ces associations n'ont pas été clairement mise en évidence *in vivo*). L'insuline fixée modifie la conformation de la chaîne, ce qui lève l'inhibition qu'elle exerce sur les sous unités.

## TRANSDUCTION DU SIGNAL

Cette transduction du signal initiée par la fixation de l'hormone est originale: le récepteur insulinique n'est pas couplé avec une protéine G, et il mobilise plusieurs second messagers différents dont un ensemble de molécules possédant des domaines SH2. La liaison effectuée, on assiste à un regroupement des récepteurs dans une zone cellulaire délimitée faisant suite à un changement de conformation des sous-unités. Ce changement provoque l'activation des sous-unités capables de se phosphoryler mutuellement au niveau de résidus tyrosine. Ceci dégage les sites de fixation de l'ATP et des plusieurs substrats, permettant ainsi la phosphorylation de plusieurs protéines cytoplasmiques (probablement différentes selon la cellule cible et les effets médiés) dont les 4 molécule IRS (Insulin Receptor substrate) et l'enzyme Shc. La forme du complexe récepteur-ligand est alors celle d'un cylindre dessinant un tunnel transmembranaire où va pouvoir pénétrer le glucose. Ce n'est pas là le mécanisme principal favorisant l'entrée du glucose dans les cellules: la fixation de l'insuline sur son récepteur déclenche principalement l'exocytose de vésicules intracytoplasmiques contenant des perméases au glucose. Le déroulement de cette exocytose met en jeu les molécules SNARE situées dans la paroi des vésicules (v-SNARE vamp2) qui se lient spécifiquement aux molécules t-SNARE syntaxine 4 de la membrane plasmique des cellules musculaires et adipeuses.

L'ensemble ligand-récepteur est internalisé et ces deux molécules sont dégradées. Un taux variable de récepteur est recyclé. Ceci permet une régulation de l'entrée de glucose

dans la cellule et en cas d'hyperglycémie de longue durée, déclenchant une hyperinsulinémie, le recyclage des récepteurs peut être stoppé: les cellules deviennent alors vierge de tout récepteur insulinique et sont donc résistantes à son action. Les conditions normales revenues, il leur faudra un temps de latence pour resynthétiser des récepteurs fonctionnels. (peut-être cette resynthèse est elle défectueuse dans l'insulinorésistance ?).

Il existe deux voies intracellulaires médiant l'action de l'insuline. Elles se rejoignent au niveau de l'activation de l'enzyme Sos.

**Les molécules IRS sont à la base de la première voie de signalisation** intracellulaire de l'insuline. Les IRS comprennent un domaine amino-terminal fortement conservé contenant un domaine de liaison à la phosphotyrosine, permettant leur fixation sur la tyrosine 960 de la sous unité  $\beta$ , et un domaine analogue à la pleckstrine. Ils diffèrent par leurs extrémités carboxy-terminales qui présentent plusieurs sites tyrosine pouvant être phosphorylés. Ces sites permettent la fixation de molécules différentes, en particulier celles du type SH2. Une fois activé (ses résidus tyrosine phosphorylés), l'IRS1 stimule à son tour 3 autres enzymes: la Pi3K, la Shp2 et la Grb2. C'est l'activation de la Pi3K, réalisée majoritairement *in vivo* par l'IRS3, qui provoque la translocation des transporteurs GLUT 4 à la surface des cellules. L'IRS2 peut aussi agir directement à ce niveau, du moins dans les adipocytes. L'IRS 1 est capable également de se fixer sur le gène antiapoptotique Bcl-2 (dont l'insuline seule provoque la phosphorylation) et contribue à son activation, ce qui n'est pas le cas d'IRS 3 qui tend à diminuer les effets anti-apoptotiques d'IRS1 et Bcl-2.

**L'autre voie de signalisation** implique la liaison de la Shc à la sous unité  $\beta$ . La Shc activée initie alors une cascade de phosphorylations stimulant une suite de kinases (Shc - Grb2 - Sos - Ras - MAP) médiant les effets de l'insuline sur la transcription ou l'inhibition de certains gènes.

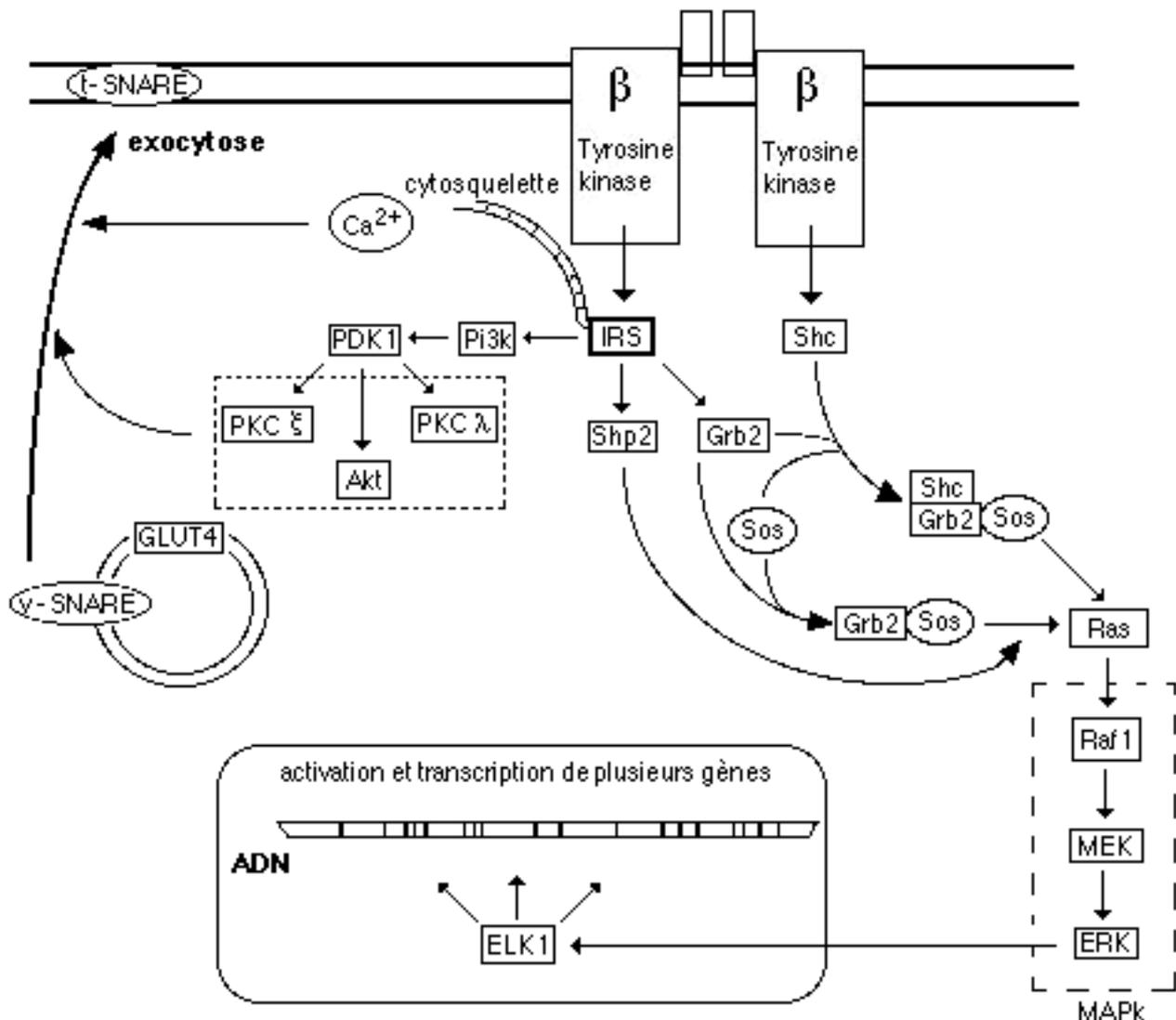
L'insuline peut également parvenir directement au noyau cellulaire en formant un complexe avec son récepteur et l'  $\alpha$  2 macroglobuline, une protéine inhibant l'activité protéinase. Signalons également que le récepteur de l'insuline est impliqué dans les mécanismes de croissance cellulaire médiés par son ligand en tant que facteur de croissance.

**Le contrôle de l'activation du récepteur** met en jeu des inhibitions par les substrats qui agissent souvent par le biais d'une activité sérine / thréonine kinase. Ainsi, la Pi3K et la GSK3 modulent le niveau de phosphorylation, et donc l'activité, des molécules IRS1. Les voies de signalisation intracellulaire de l'insuline utilisant de nombreux substrats communs à d'autres récepteurs, plusieurs interactions on pu être mises en évidences avec:

- la voie de signalisation du PDGF (PI3K et IRS1 sont impliqués)
- la protéine G du récepteur adrénergique qui peut être phosphorylée par la sous unité  $\beta$ , diminuant l'efficacité de l'activation de ce récepteur
- le récepteur de l'angiotensine 2 qui influe sur IRS1

## Voies intracellulaires de signalisation de l'insuline

Les flèches droites signalent une activation



Akt: sérine / thréonine kinase	PKC: protéine kinase C
ELK1: facteur promoteur de transcription	Ras : rat sarcoma viral oncogene homolog protéine G à bas poids moléculaire -se lie au GTP
ERK: extracellular signal regulated kinases	Shc: src homology and collagen protein
GLUT4: perméase du glucose	Shp2:phospho-tyrosine phosphatase
Grb2 : growth factor receptor bound protein 2	SNARE: Soluble N ethylmaleimide-sensitive factor/attachment protein receptors
IRS : insulin Receptor Substrate	Sos: son of sevenless -facteur d'échange de la guanosine
MAPk : mitogen activated protein kinases	
PDK1 : protéine kinase	
Pi3K : phosphatidyl-inositol 3 kinase	

### IMPLICATIONS DU RECEPTEUR DANS LA PATHOLOGIE DIABETIQUE

Une atteinte du nombre ou de l'affinité des récepteurs modifie directement la sensibilité des cellules cibles à l'insuline. Sans récepteur efficace, l'insuline est inutile quel que soit son niveau. Le récepteur est donc impliqué dans les phénomènes liés au DNID:

### **insulinorésistance:**

L'implication du récepteur insulinique dans les mécanismes de l'insulinorésistance a pu être mise en évidence à plusieurs occasions:

- une insulinorésistance congénitale reliée à une mutation affectant la géométrie du site de liaison insuline - récepteur
- le vieillissement de l'organisme qui peut se traduire par une efficacité diminuée du récepteur activé. Ainsi, on a pu mettre en évidence chez le rat des mécanismes post transductionnels déprimés avec l'âge. Les taux d'IRS1 et de PI3 kinase nécessaire pour médier l'activité de l'insuline dans les cellules s'effondrent quand l'organisme vieillit.
- les molécules IRS 1 et 2 qui sont capables de se fixer sur la calmoduline. Cette fixation est augmentée en cas d'insulinorésistance dans les tissus insulinosensibles de rat. Elle provoque alors une augmentation du taux de calcium intracellulaire. Agissant en compétition avec les IRS, la calmoduline peut être impliquée dans la réduction de l'efficacité de la liaison insuline/récepteur.
- l'absence d'IRS1 obtenue expérimentalement chez la souris conduit à une légère insulino-résistance alors que le déficit en IRS2 provoque le développement d'un diabète NID avec atteinte des cellules B et forte insulino-résistance.
- l'hyperglycémie souvent associée à l'hyperinsulinémie qui exacerbe la régulation négative du nombre de récepteur. Ceux-ci n'étant quasiment plus recyclés, la cellule originellement insulino-sensible cesse d'être une cellule cible, et ce d'autant plus que la biosynthèse de nouveaux récepteurs peut être bloquée ou déficiente.

### **Diminution de l'affinité hormone-récepteur**

La liaison hormone-récepteur n'est pas nécessairement optimale: des expériences de mutagenèse dirigée modifiant la séquence de l'insuline ont abouti à des molécules mutantes dont l'affinité pour les récepteurs est de 43 % supérieure à celle de l'insuline normale. Ces "super-insulines" ont un intérêt thérapeutique potentiel mais leurs effets ne sont pas toujours comparables à ceux de l'insuline native car ils favorisent en particulier les processus mitogéniques. Les second messagers utilisés par l'insuline ont également probablement une importance insoupçonnée dans la pathologie diabétique. Ainsi, des souris déficientes en molécules IRS2 présentent les caractéristiques d'un diabète NID. L'IRS2 est un second messenger reliant les effets des liaisons ligand-récepteur pour l'insuline mais aussi l'IGF1 et les cytokines. Ces molécules ont en commun d'exercer leurs effets sur le métabolisme énergétique, la croissance et la différenciation.

### **micro-angiopathie**

Il a été identifié des formes mutantes du récepteur insulinique provoquant, après liaison du ligand, une surexpression des intégrines, en particulier des sous-unités  $\alpha_5$  et  $\beta_1$ . Or, ces molécules sont responsables d'une anomalie de la croissance des cultures de fibroblastes *in vitro*, les cellules restant groupées au lieu de se diffuser dans le milieu. Cette implication du récepteur insulinique sur une perturbation de l'adhésion des cellules, et donc *in fine* sur la structure des lames basales, pourrait être impliquée dans les désordres observés au niveau des capillaires sanguins chez les sujets diabétiques. La stimulation par les fibronectines des intégrines  $\alpha_5 \beta_1$  augmente la phosphorylation du récepteur à l'insuline et de l'IRS1, intervenant ainsi directement sur la spécificité de la réponse insulinique selon le tissu considéré.

Il apparaît évident que le récepteur à insuline, par sa conception et sa position membranaire joue un rôle fonctionnel fondamental sur l'action biologique spécifique de l'hormone et présente un intérêt essentiel dans le diabète de type 2. L'efficacité de l'insuline sur les cellules cibles ne peut être adéquate que par l'intermédiaire d'un système autonome, assuré par le récepteur, permettant le passage transmembranaire du message insulinique. Un récepteur à insuline défaillant est synonyme de diabète NID.