
Résumé

Pour étudier l'expression et la fonction du récepteur minéralocorticoïde (MR), un facteur de transcription relayant les effets de l'aldostérone, nous avons développé une stratégie d'oncogenèse ciblée chez la souris et établi de nouvelles lignées cellulaires sensibles à cette hormone. Pour cela, les promoteurs proximal et distal du gène du MR humain ont été utilisés pour diriger l'expression de l'Antigène T de SV40 dans les cellules cibles de l'aldostérone.

Nous présentons la caractérisation de deux lignées cellulaires épithéliales, issues du tubule collecteur cortical rénal (KC3AC1) et du vestibule de l'oreille interne (EC5v). Ces cellules polarisées expriment le MR et la 11 β -hydroxystéroïde de type II, enzyme clé de la sélectivité minéralocorticoïde. Les cellules KC3AC1 sont le siège d'un transport actif de Na^+ via le canal épithélial à sodium (ENaC), alors que les cellules EC5v assurent le maintien d'un gradient de K^+ endolymphatique via le canal apical $\text{I}_{\text{sk}}/\text{KVLQT1}$. L'aldostérone induit dans ces cellules l'expression de gènes cibles (Sgk1, GILZ, αENaC).

Nous décrivons aussi le modèle d'adipocytes bruns T37i, qui nous a permis d'identifier de nouvelles fonctions pour l'aldostérone, comme l'induction de la différenciation adipocytaire et l'inhibition de l'expression de la protéine découplante UCP1. Nous montrons que les adipocytes bruns sont des cellules endocrines sécrétant les adipokines leptine, adiponectine et résistine. Grâce à ces cellules, nous avons aussi identifié un nouveau dialogue entre la voie de signalisation de l'insuline et de la prolactine.

Ces modèles cellulaires originaux représentent des outils extrêmement précieux pour acquérir de nouvelles connaissances dans la compréhension de la diversité des effets minéralocorticoïdes et pour identifier de nouveaux gènes cibles de l'aldostérone. Ils devraient aussi faciliter l'étude de l'expression tissu-spécifique du MR et la caractérisation de ses mécanismes moléculaires de régulation transcriptionnelle.

Abstract

In order to study expression and function of the mineralocorticoid receptor (MR), a transcription factor mediating most aldosterone actions, we have developed a targeted oncogenesis strategy in mice to establish new aldosterone-sensitive cell lines. Therefore, we used the proximal and the distal promoter of the human MR gene to drive expression of the SV40 large T Antigen in all target cells of this hormone.

We first present the characterization of two epithelial cell lines, derived from the renal cortical collecting duct (KC3AC1) and from the vestibule of the inner ear (EC5v). These polarized cells express MR and the enzyme 11- β hydroxysteroid dehydrogenase type II, which ensures the mineralocorticoid selectivity. KC3AC1 cells actively transport sodium *via* the epithelial sodium channel (ENaC) whereas EC5v cells participate to potassium homeostasis in the endolymph *via* the apical $\text{I}_{\text{sk}}/\text{KvLQT1}$ channel. In both cell lines, aldosterone is able to induce expression of specific target genes (Sgk1, GILZ, αENaC).

We next describe the T37i brown adipocyte model, which enabled us to identify new functions for aldosterone in brown fat, most notably stimulation of adipocyte differentiation and inhibition of the UCP1 uncoupling protein expression. Moreover, our results demonstrated that brown adipocytes are endocrine cells capable of secreting adipokines such as leptin, adiponectin or resistin. We have also identified in these cells a cross-talk between insulin and prolactin signaling pathways.

These original cellular models represent suitable experimental tools to gain further insights into the comprehension of the diversity of mineralocorticoid effects and to identify new aldosterone-regulated genes. They should also help us to study tissue-specific expression of MR and to characterize molecular mechanisms underlying transcriptional regulation mediated by MR.

Discipline : Signalisation Cellulaire, Endocrinologie et Reproduction

Mots clés : Aldostérone, récepteur minéralocorticoïde, lignées cellulaires, signalisation, tube collecteur cortical, oreille interne, adipocyte brun, transport ionique, régulation transcriptionnelle

Intitulés et adresses des laboratoires où la thèse a été réalisée :

Inserm U478 :

Hormones Corticostéroïdes et Protéines de Transport Ionique dans les Cellules Epithéliales.
Faculté de Médecine Xavier Bichat, 16 rue Henri Huchard, 75018, Paris.
Directeur : Dr Nicolette FARMAN

Inserm U693 :

Récepteurs Stéroïdiens, Physiopathologie Endocrinienne et Métabolique.
Faculté de Médecine Paris-Sud, 63 rue Gabriel Péri, 94276 Le Kremlin-Bicêtre.
Directeur : Dr Marc LOMBÈS