



Toxicité des contaminants alimentaires

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

Lille 2010

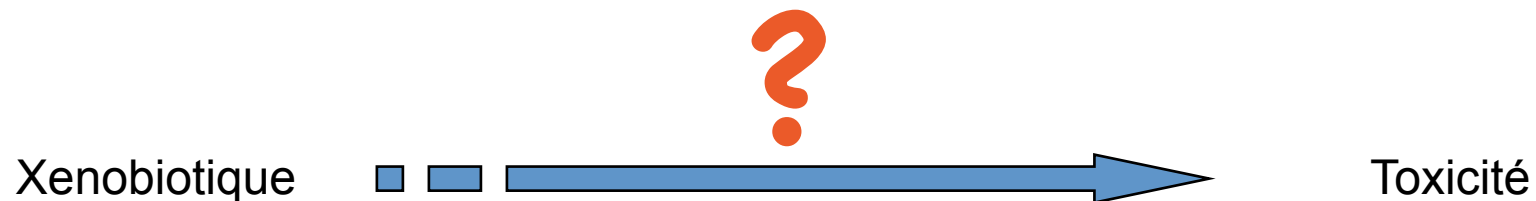
INSERM UMR-S 747 (Pr R. Barouki) – Université Paris Descartes



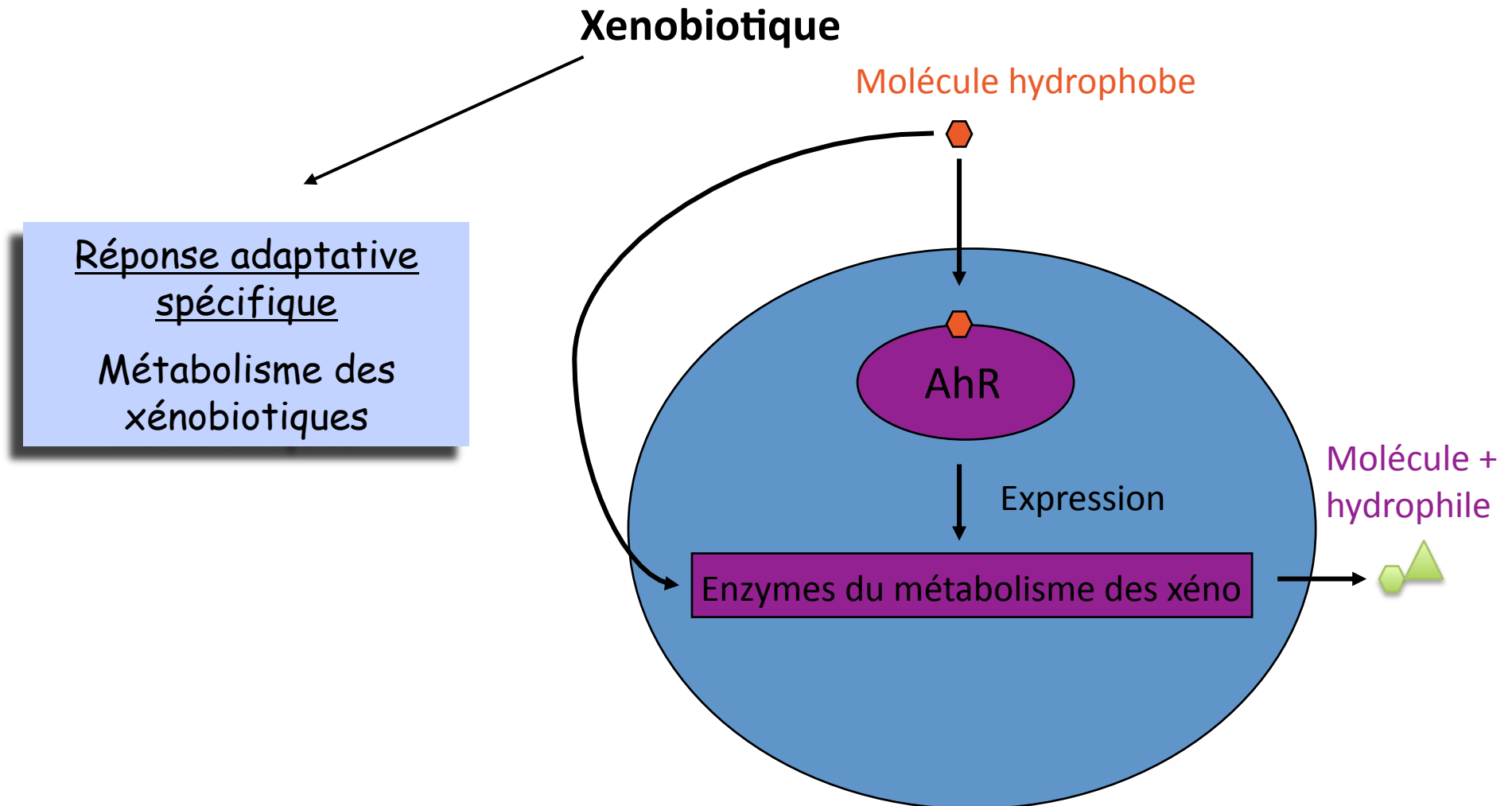
Thème de recherche principal de l'équipe 1 de l'unité INSERM 747

Compréhension des mécanismes d'action des xénobiotiques

Xénobiotique: petite molécule étrangère à l'organisme, en général hydrophobe et susceptible d'exercer des effets toxiques sur l'organisme



Stress d'exposition aux xénobiotiques



De nombreux xénobiotiques lient le AhR

Molécules hydrocarbonées, planes

- PCBs (PolyChlorinated Biphenyls)
- Certains PBDEs (PolyBromoDiEthyls)

- PCDDs (PolyChlorinated Dibenzo-p-dioxins, 75 au total),
- PCDFs (PolyChlorinated Dibenzo-p-furanes, 135 congénères)

- Hydrocarbures aromatiques polycycliques

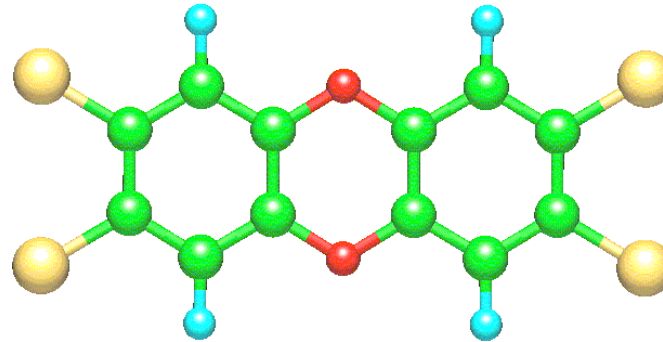
Origine variée, +/- volontaire (industries, ...)

Toxicité

- Mélanges !!!
- Comment évaluer la toxicité d'un mélange de ligands du AhR : notion de facteurs d'équivalence toxique (TEF ou Toxic Equivalent Factor).

- Toxicité très variable en fonction des espèces considérées (K_d du AhR).

Les dioxines

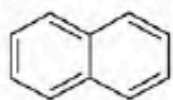


Un exemple: 2, 3, 7, 8 TetraChloroDibenzoDioxine: TCDD

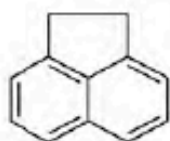
- Hydrocarbures aromatiques halogénés: HAH
- Planes, hydrophobes, **Polluants Organiques Persistants (POP)**
- Origine industrielle: combustion des déchets, industries (papier, pesticides)
- Contamination de la chaîne alimentaire (voir HAP)
- Lait maternel
- Pour certaines, excellents ligands du **AhR (TCDD, Kd nM)**

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

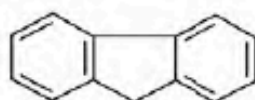
- 200 composés (noyaux aromatiques +/- fusionnés)
- Combustion incomplète



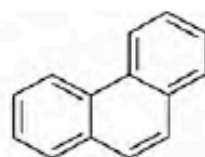
Naphthalene
(Nap)



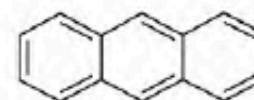
Acenaphthene
(Ace)



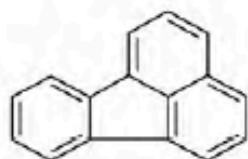
Fluorene
(Flu)



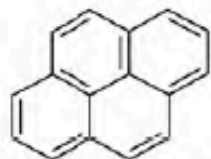
Phenanthrene
(Phe)



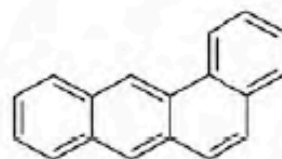
Anthracene
(Ant)



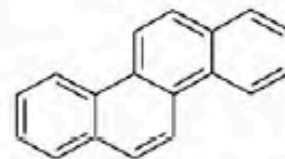
Fluoranthene
(Flt)



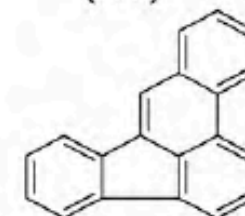
Pyrene
(Pyr)



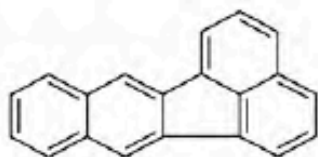
Benz[a]anthracene
(BaA)



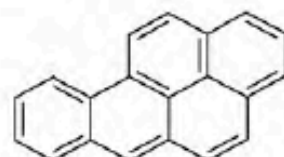
Chrysene
(Chr)



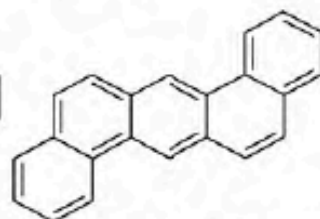
Benzo[b]fluoranthene
(BbF)



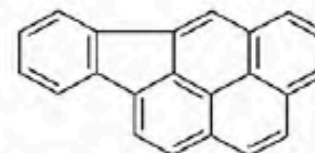
Benzo[k]fluoranthene
(BkF)



Benzo[a]pyrene
(BaP)



Dibenz[a,h]anthracene
(DahA)

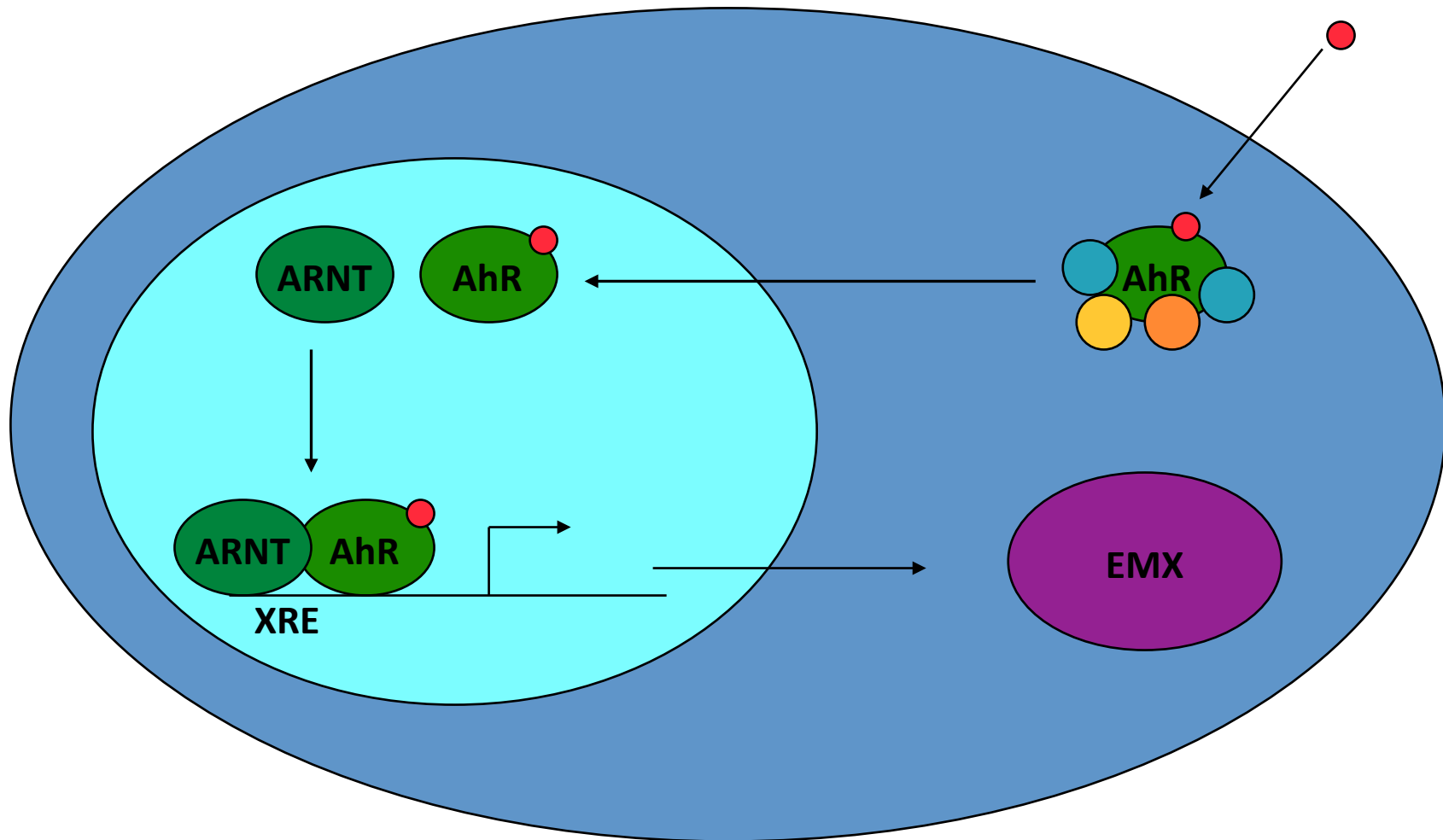
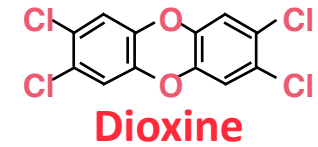


Indeno[1,2,3-cd]-
pyrene (IP)



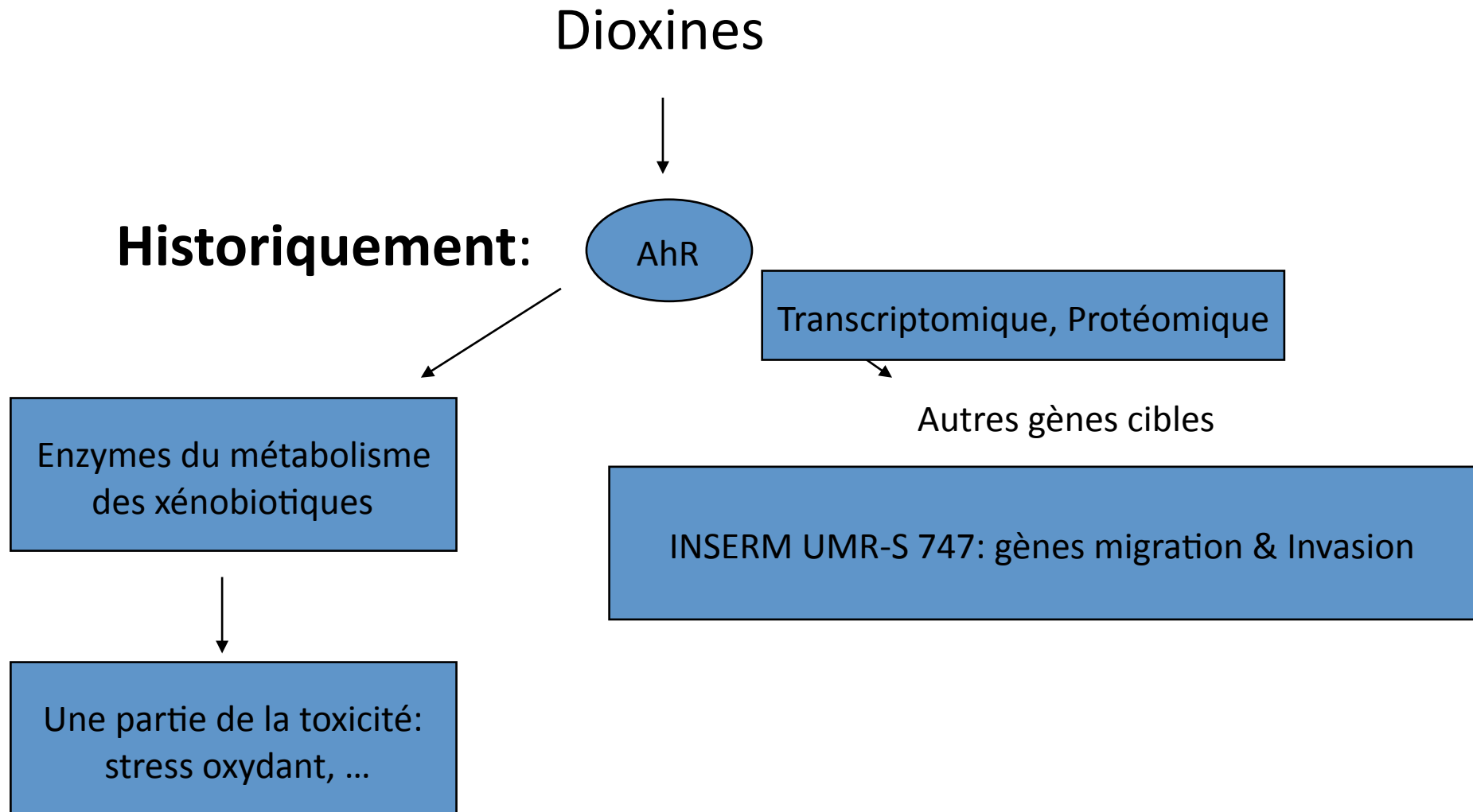
Benzo[ghi]perylene
(BghiP)

Voie de signalisation du AhR



ARNT = HIF1 β ; XRE : Xenobiotic Responsive Element

Les EMX, seuls gènes cibles du AhR ?



Les EMX, seuls gènes cibles du AhR ?

Transcriptomique



Nouveaux gènes cibles AhR dont les fonctions → migration et invasion

1 – L’activation du AhR par la dioxine conduit elle à des changements des propriétés d’invasion et de migration des cellules ?

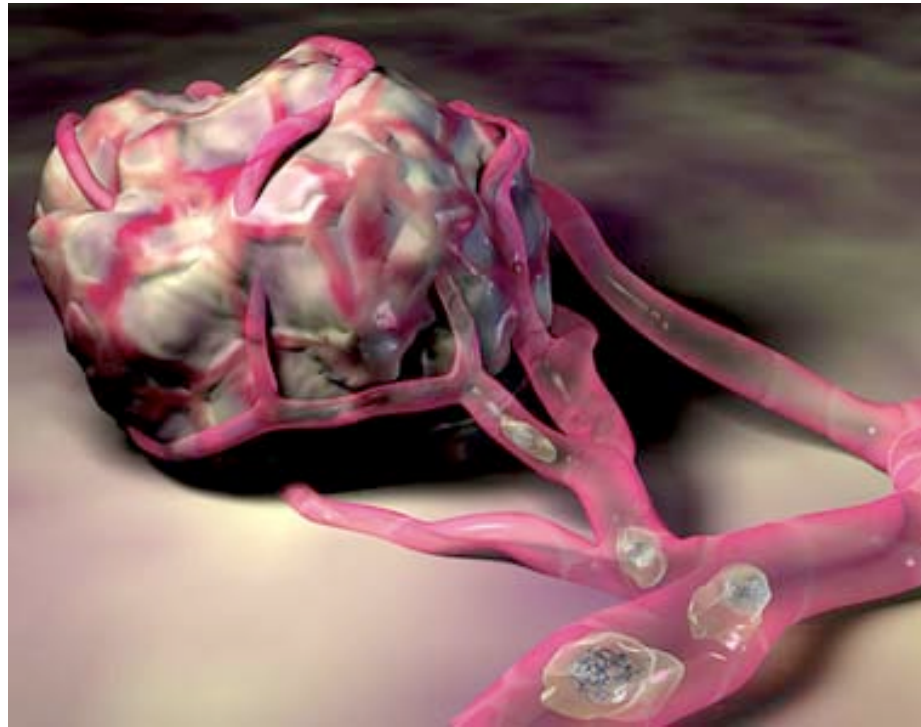
2 – Si oui, quelle est la part jouée par les gènes identifiés dans ce changement de “**plasticité cellulaire**” ?

L'activation du AhR par la dioxine conduit elle à des changements des propriétés d'invasion et de migration des cellules ?

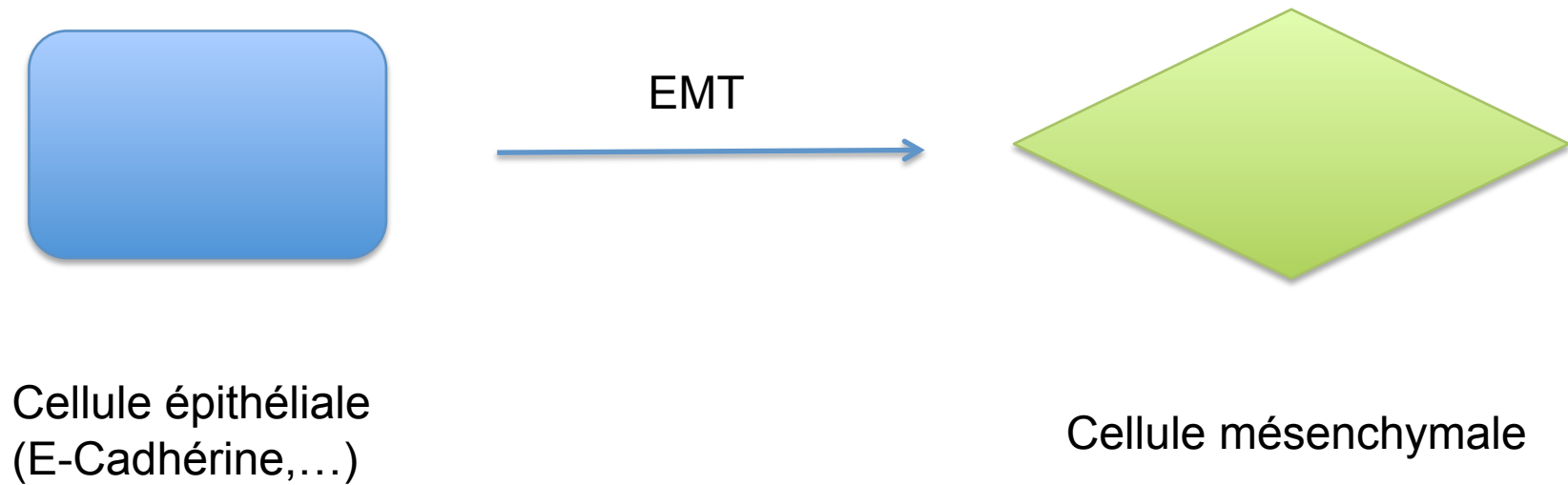


Influence des facteurs environnementaux (dioxines, ...) sur la progression tumorale ?

Progression tumorale ou dissemination métastatique

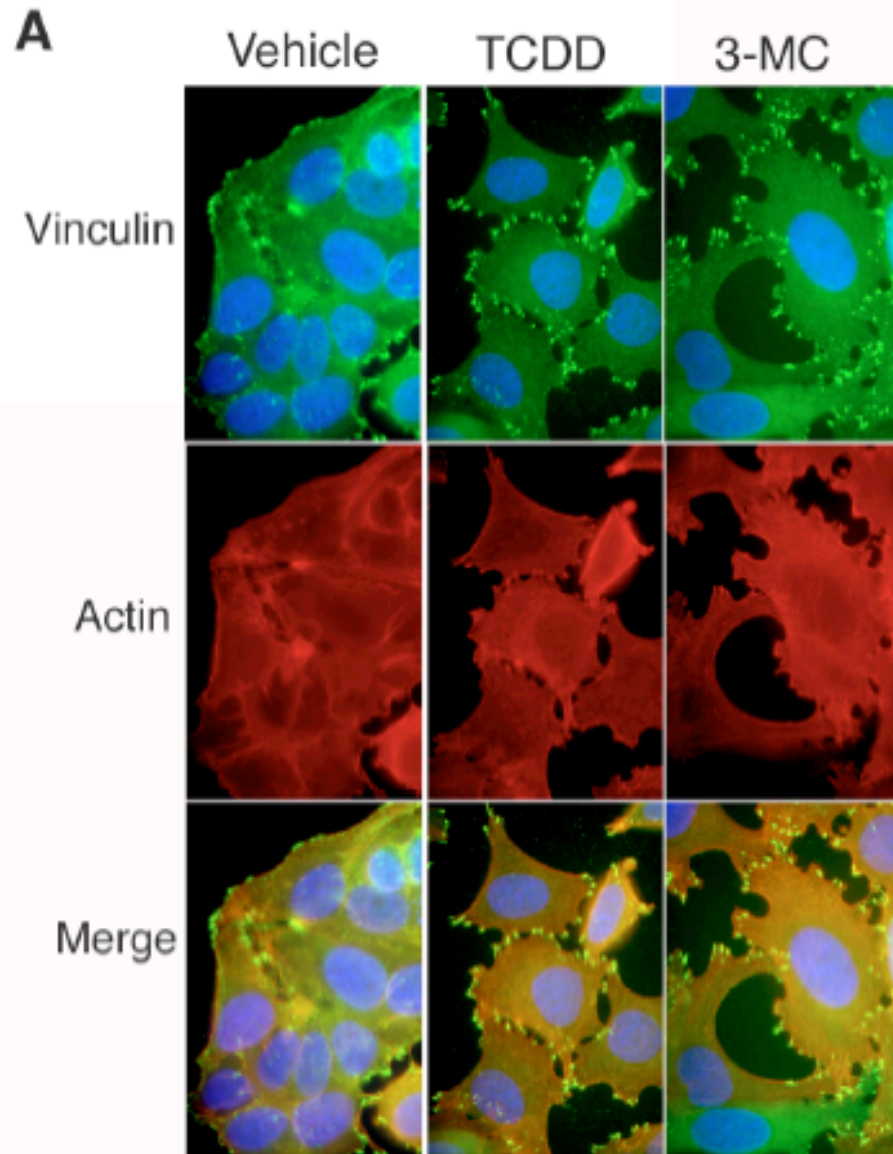


L'hypothèse "EMT"

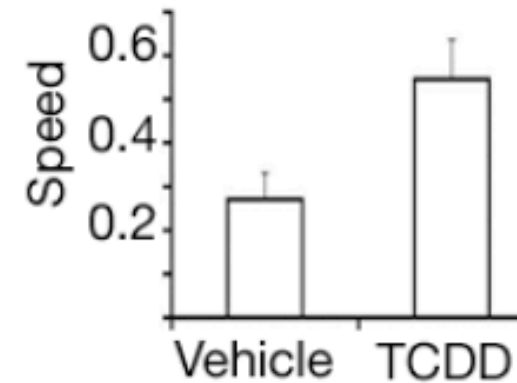


TRANSITION EPITHELIO-MESENCHYMATEUSE

Morphologie cellulaire / Migration cellulaire



Cellules MCF-7



Diry et al, Oncogene 2006

Les EMX, seuls gènes cibles du AhR ?

Transcriptomique



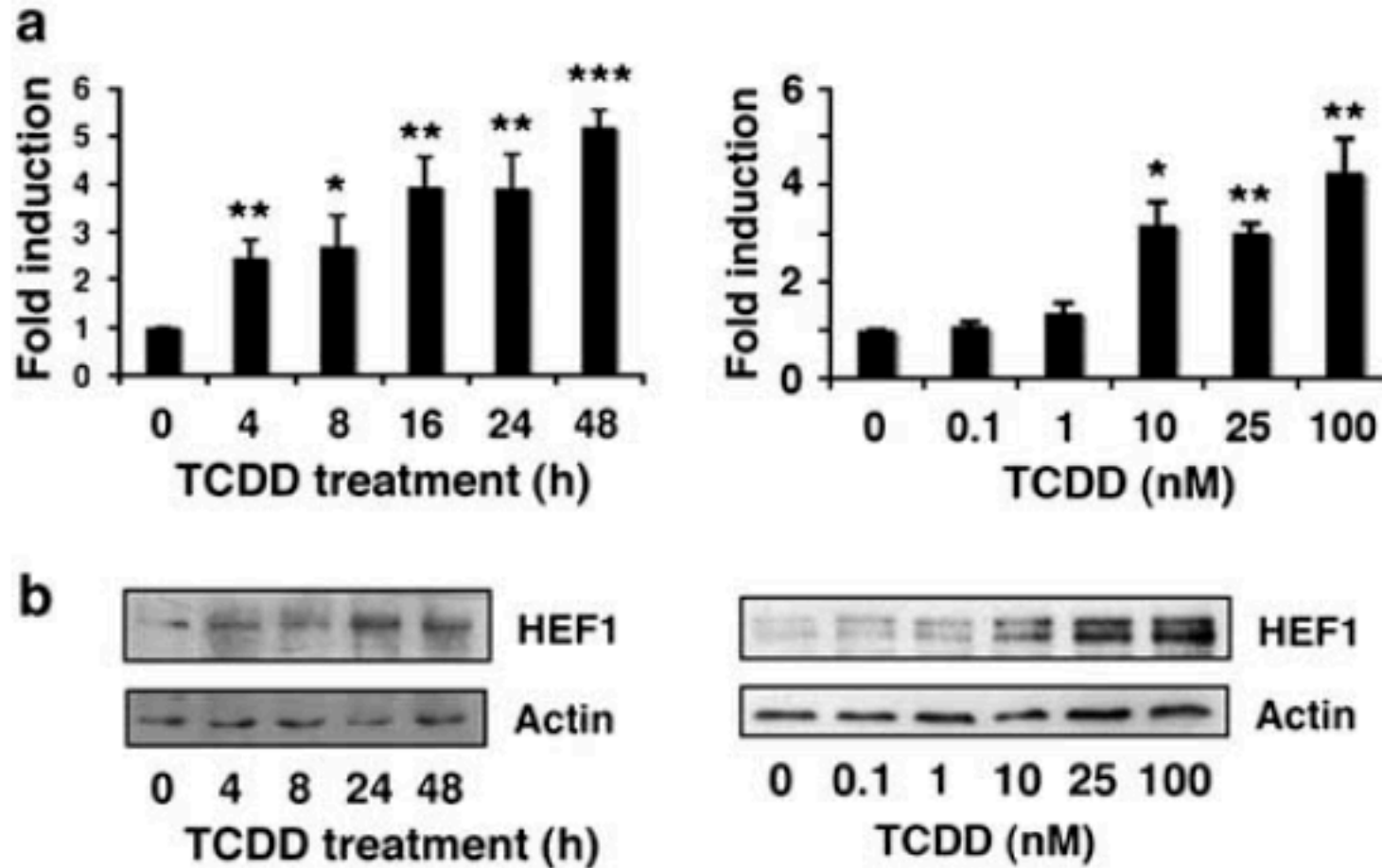
Nouveaux gènes cibles AhR dont les fonctions → migration et invasion

1 – L’activation du AhR par la dioxine conduit elle à des changements des propriétés d’invasion et de migration des cellules ? **Oui**

2 – Si oui, quelle est la part jouée par les gènes identifiés dans ce changement de “**plasticité cellulaire**” ? → **HEF1**

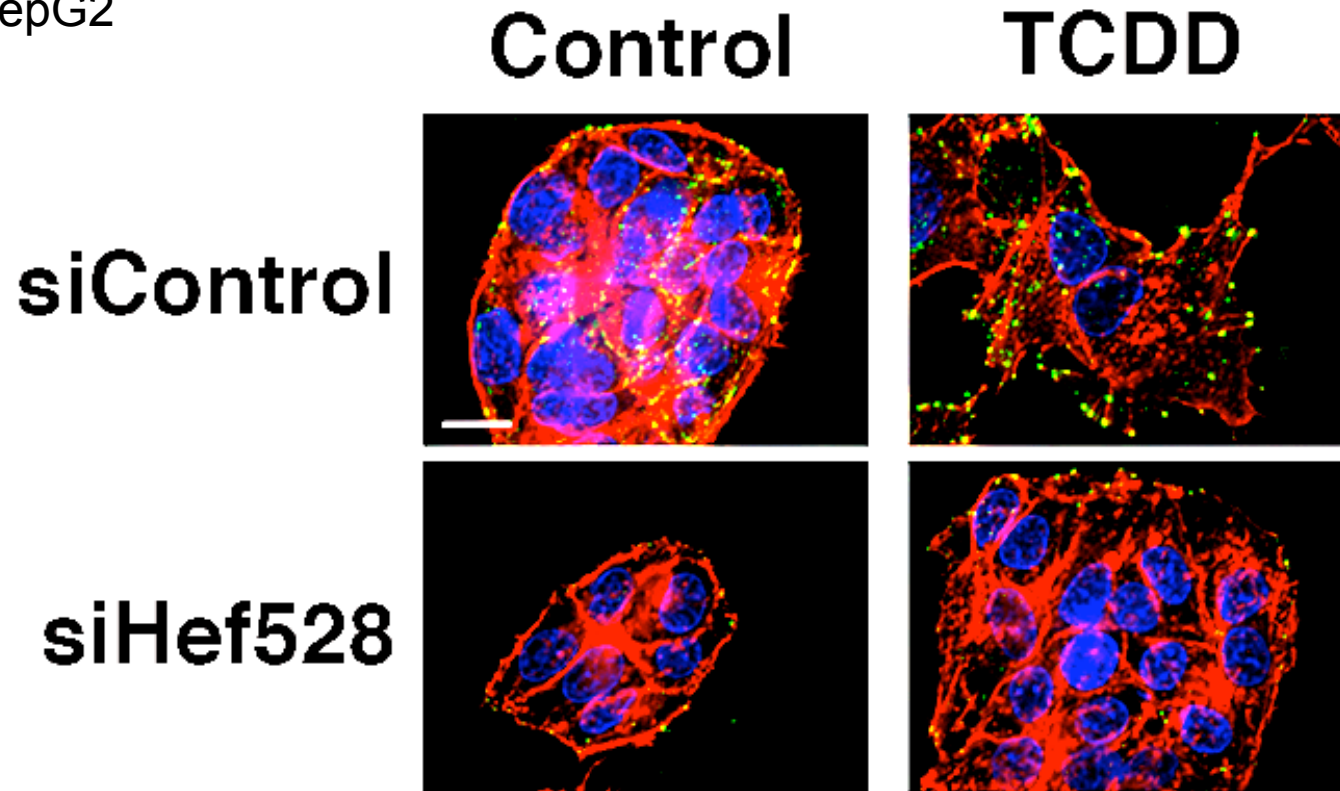
- **Signalisation intégrines**
- **Marqueur métastatique**

Régulation du gène HEF1 par la dioxine (Human enhancer of Filamentation 1)

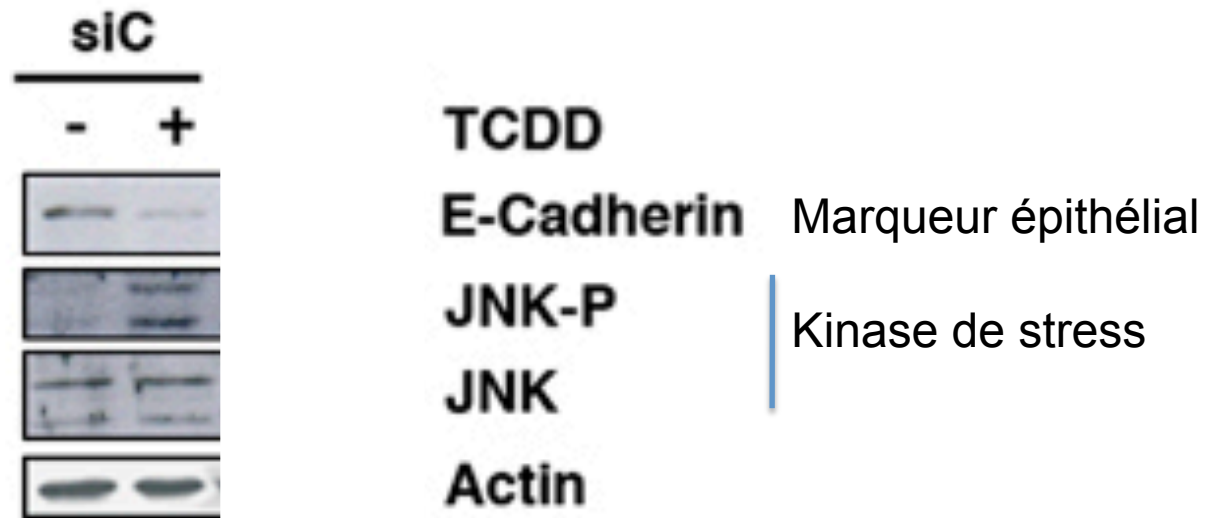


Rôle de HEF1 dans les effets du AhR ?

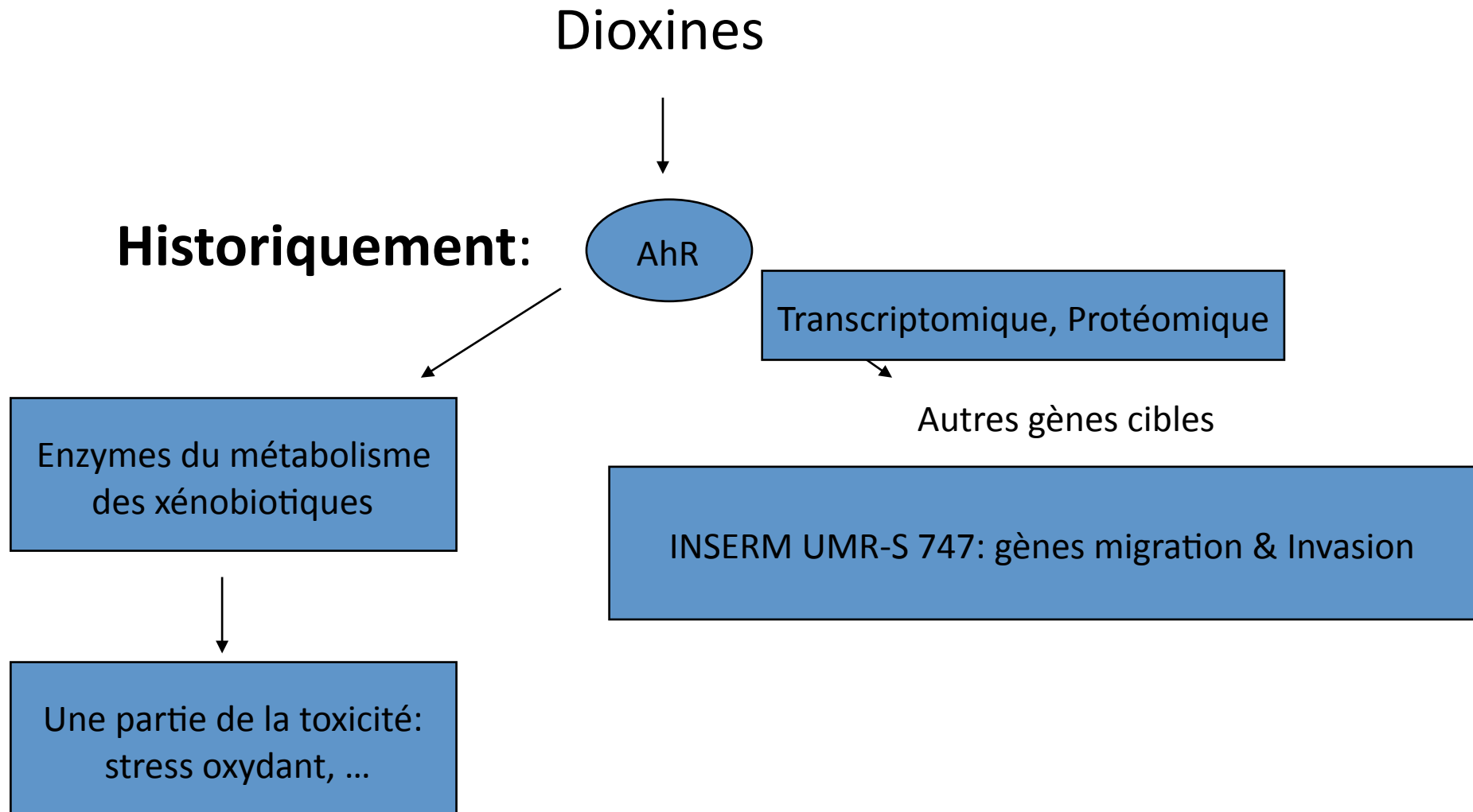
Cellules HepG2



Rôle de HEF1 dans les effets du AhR ? (2)

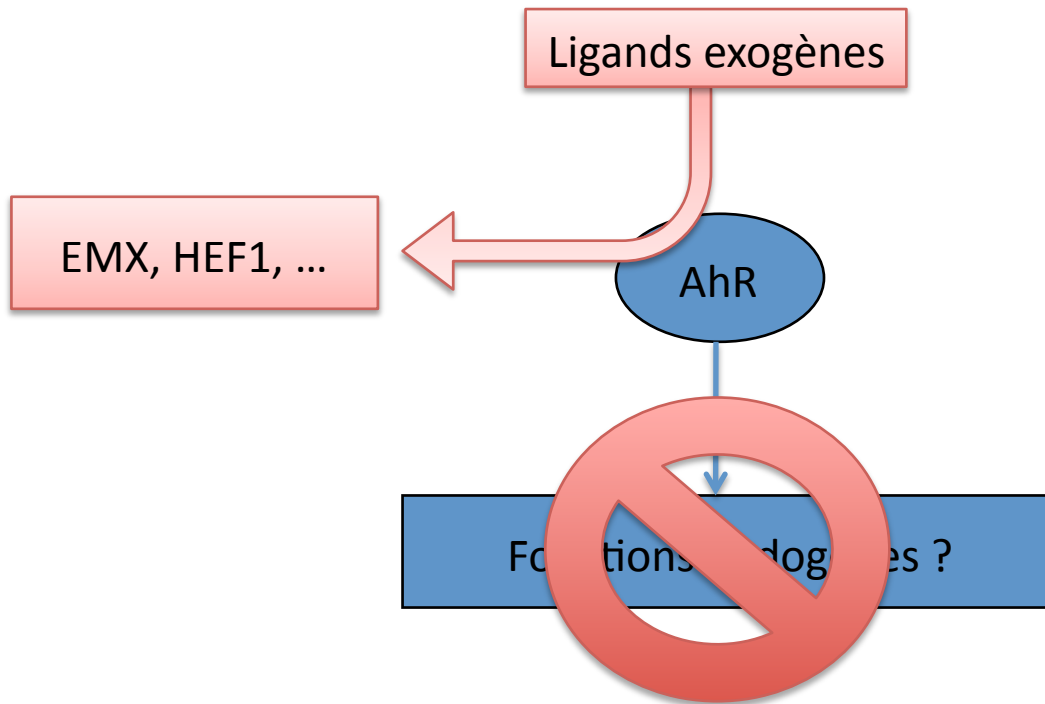


Les EMX, seuls gènes cibles du AhR ?



Quelles fonctions endogènes pour le AhR ?

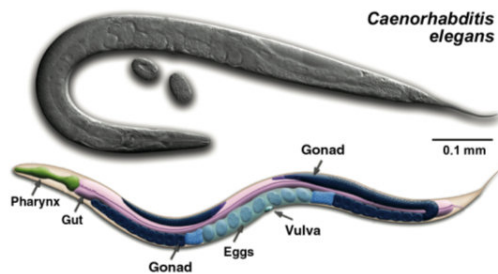
Ligands exogènes – Perturbation ?



Rôles endogènes du AhR: modèles animaux

- KO chez la souris = phénotypes (reproduction, thymus, foie, CV)
- Existence de protéines AhR chez les vertébrés et **invertébrés**
- Voie de signalisation **conservée** chez les invertébrés mais:
 - ✓ **pas de ligand connu du récepteur chez les invertébrés**
 - ✓ **expression exclusivement neuronale**
- KO chez les invertébrés: **problème de migration et de diff neuronale**

Caractérisation des gènes cibles dans les cellules de *C. elegans* exprimant le AhR



FACS extraction

Neurons expressing the AhR

Genes inhibited in the KO nematode / WT
C. elegans WT vs KO

(-8.42)	nlp-20	Neuropeptide
(-8.29)		
(-7.79)	<i>gcy-35</i>	Metabolisme GMPc
(-8.23)		
(-5.14)	flp-8	Neurotransmetteur
(-5.05)		
(-3.37)	<i>gcy-36</i>	Metabolisme GMPc
(-3.30)		
(-3.33)	aNagase	Alpha-N-acétylgalactosaminidase
(-3.26)		
(-3.27)	<i>gcy-32</i>	Metabolisme GMPc
(-3.27)		
(-2.94)	<i>gcy-34</i>	Metabolisme GMPc
(-2.94)		
(-2.62)	agr-1	Agrin - ECM
(-2.65)		
(-2.67)	cyp-13A10	Monoxygénase
(-2.71)		
(-2.24)	glb-5	Globine
(-2.24)		

Collaborations:

- C. Néri (INSERM)
- GODMAP (Gif)

Conservation des gènes cibles au cours de l'évolution ?

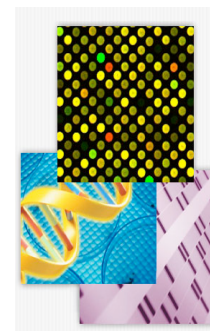
A neuronal function for the AhR in vertebrates ?



Transcriptomics experiment in mice (cerebellum)
- WT vs KO

Collaborations:

- P. Fernandez-Salguero
- O. Kellermann (U747)
- GODMAP (Gif)
- P-P. Vidal (Sts-Pères)



De l'importance de caractériser les mécanismes pour comprendre la toxicité...

Apport de la toxicogénomique

- Identification de nouvelles cibles du récepteur Ah (AhR)
- Régulation de la migration et de l'invasion cellulaire par le AhR et ses ligands sur des modèles cellulaires (lignées)

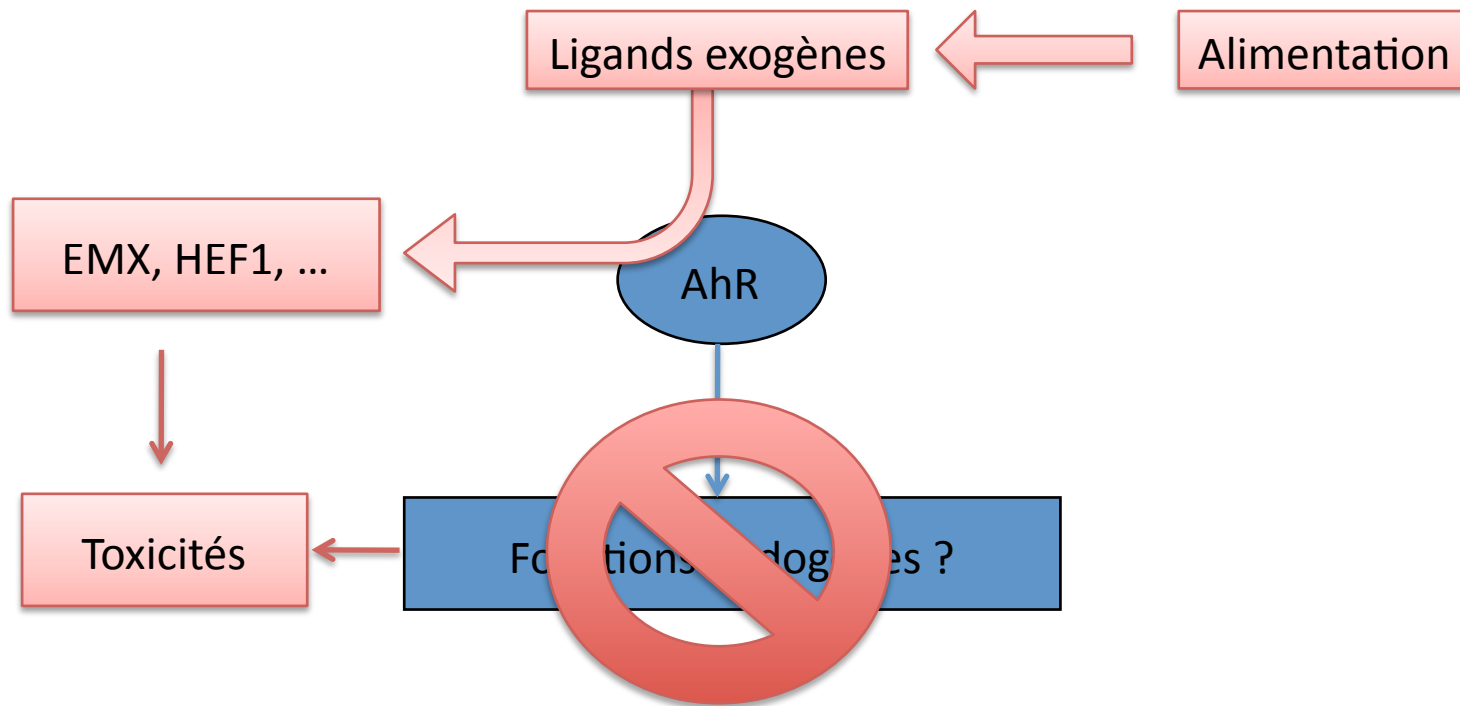
Soulève des questions plus générales sur le rôle des polluants sur la migration cellulaire (progression tumorale, études en cours sur des modèles *in vivo*, souris AhR WT et KO)

- Résultats préliminaires intéressants sur d'éventuelles fonctions conservées du récepteur au cours de l'évolution (régulation de CYP): rôle ?

Permet de mettre en parallèle des fonctions “communes” de processus régulés par le AhR (migration de la cellule tumorale, migration au cours du développement neuronal).

Toxicités des contaminants alimentaires (AhR)

Des questions en suspens...



Chaîne alimentaire et contamination par des ligands du AhR

Niveau de contamination en général plus élevé en haut de « la chaîne »

Fonction du régime alimentaire (ex: oiseaux ne consommant que des poissons)

Niveaux très variables en fonction :

- ✓ des régions et des activités (Seveso)
- ✓ de l'Histoire (Vietnam)

Essentiel des contaminations via l'alimentation :

- ✓ Produits laitiers, viandes et poissons (en moyenne, 1-2 pg/kg/jour de dioxines).
- ✓ Quantité totale de dioxines: ↗ de 5 à 10 fois chez un individu entre 20 et 60 ans.

Chaîne alimentaire et contamination par des ligands du AhR

Association entre niveaux de HAPs dans l'alimentation et certains cancers

Difficulté pour définir des niveaux de sureté (mixtures complexes)

Union européenne : 15 HAPs carcinogéniques

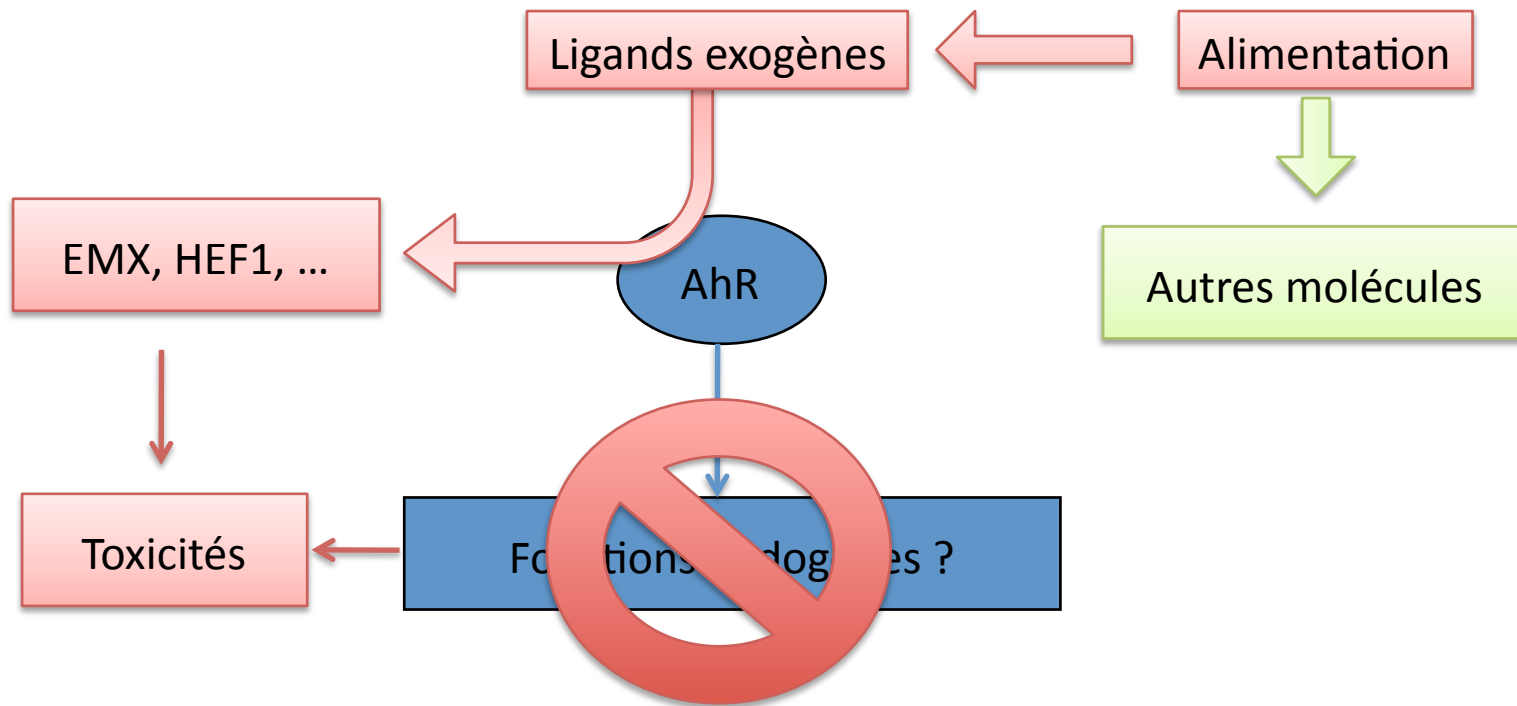
Loi européenne sur le BaP (Commission Regulation No. 208/2005)

Niveaux autorisées en ng/g:

- ✓ huiles, poissons: 2 ng/g
- ✓ poissons fumés, viandes: 5 ng/g
- ✓ mollusques, bivalves, nourritures pour enfants: 10 ng/g.

Toxicités des contaminants alimentaires (AhR)

Des questions en suspens...



Composés naturels de notre alimentation = ligands du AhR

Flavonoïdes (flavones, flavonols, flavanones, catéchines, isoflavones, anthocyanines, chalcones), indigoïdes, caroténoïdes, rétinoïdes, polyphénols

Curcumine, resvératrol

Fruits, thé, vin, légumes

Agonistes ou antagonistes du récepteur Ah.

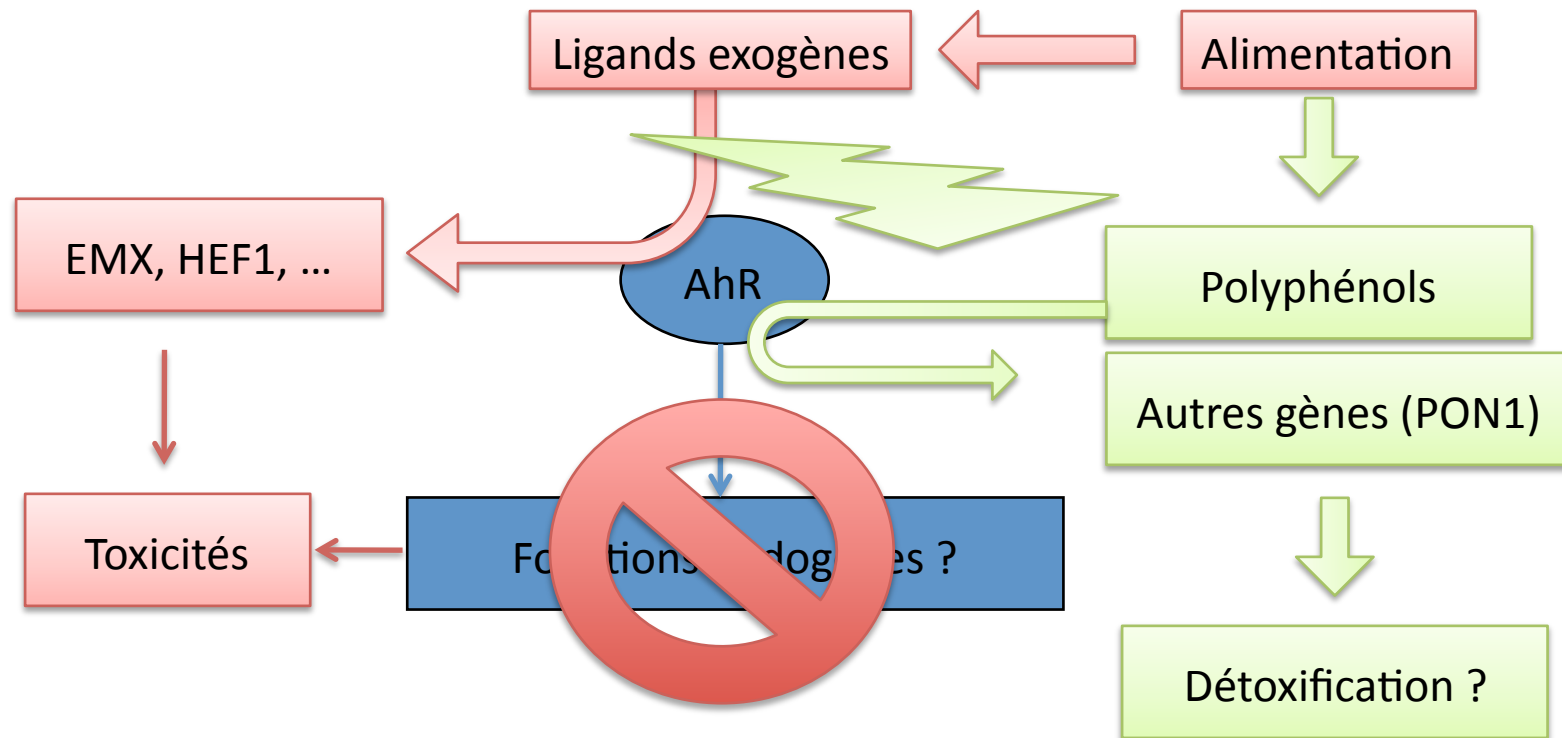
Plutôt antagoniste (vis à vis des contaminants type PCDDs ou PCBs)

Métabolisme important

Plasticité structurale du AhR ?

Toxicités des contaminants alimentaires (AhR)

Des questions en suspens...



- Internes: équipe de l'unité UMR-S 747 (plasticité, structure AhR, modèles de différenciation neuronale, mitochondrie):

Robert Barouki

Martine Aggerbeck

Lawrence Aggerbeck

Ariane Ambolet-Camoit

Etienne Blanc

Linh-Chi Bui

Aline Chevallier

Erwan Guyot

Beatrice Le Grand

Stéphane Pierre

Céline Tomkiewicz

Et les autres membres de l'unité...

- Internes: équipe de l'unité UMR-S 747 (plasticité, structure AhR, modèles de différenciation neuronale, mitochondrie):
- Externes:
 - Agnès Lehuen
 - Jean-Gabriel Judde (Xentech)
 - AstraZeneca
 - Christian Rolando
 - Roger Rahmani
 - Charbel Massaad
 - Xavier Declèves
 - Francelyne Marano / Armelle Baeza
 - Pierre Toulhoat / F. Brion
 - Dominique Bonnefont
 - Josianne Pierre/Joel Ringeaud
 - Christiane Garbay
 - Fabrice Lecuru/Anne-S Bats
 - Sophie Bernard
 - Pedro Fernandez-Salguero
 - Philippe Manivet
 - Christian Neri
 - Claude Emond
 - Alvaro Puga
 - F. Rodrigues-Lima / F. Busi