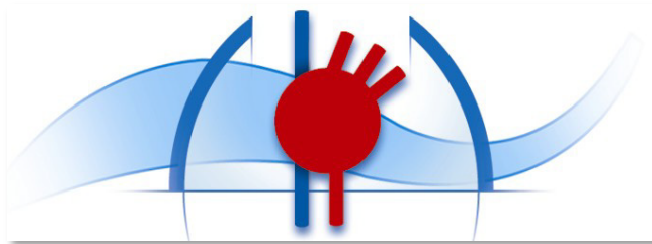


Intestin & Transport inverse du cholestérol



Inserm UMR 1087 CNRS UMR 6291 - l'institut du thorax

Cédric Le May

CR1 CNRS

cedric.lemay@univ-nantes.fr

Instituts
thématiques

Inserm



UNIVERSITÉ DE NANTES



Déclaration d'intérêts en rapport avec la présentation

- **Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports**

Non

- **Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion**

Non

- **Intérêts financiers (actions, obligations)**

Non

- **Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance**

Non

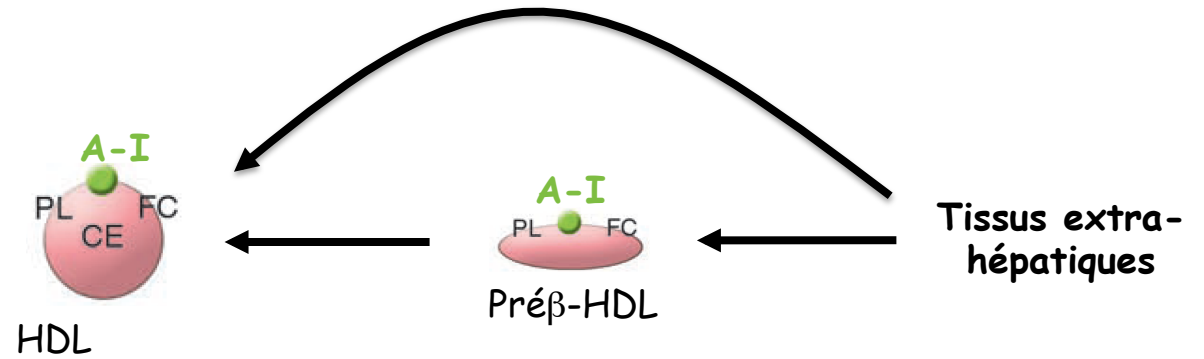
- **Réception de dons sur une association dont je suis responsable**

Non

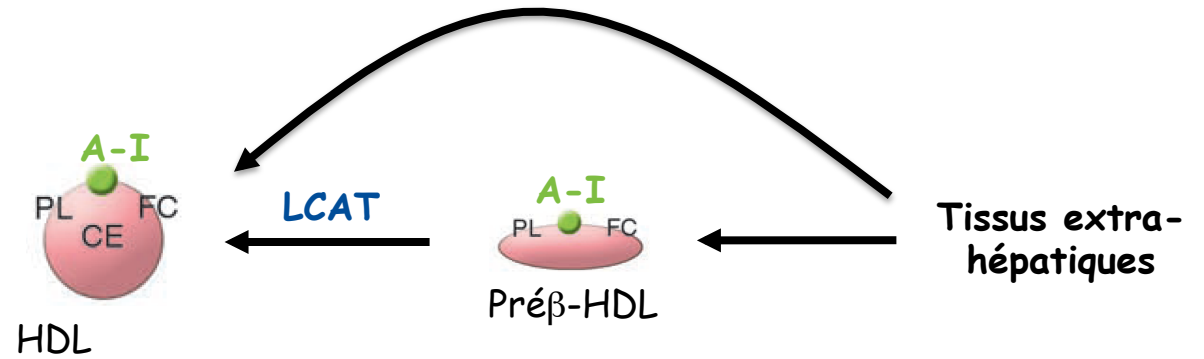
- **Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie**

Non

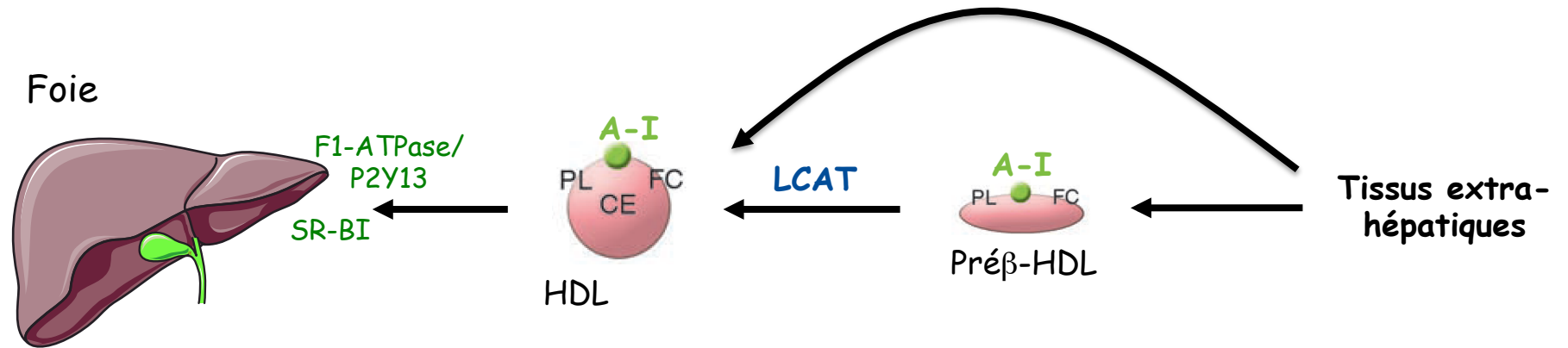
Le transport inverse du cholestérol



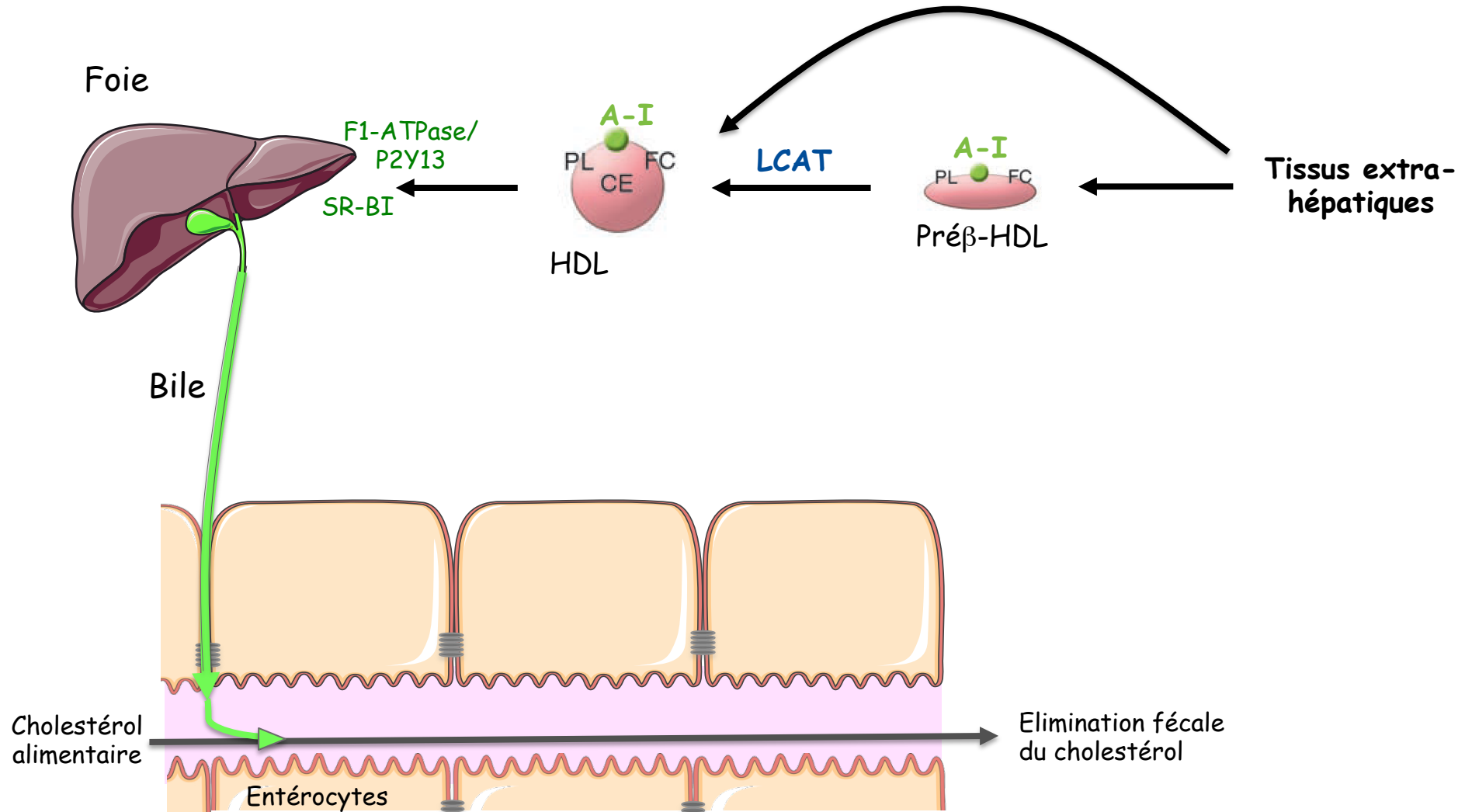
Le transport inverse du cholestérol



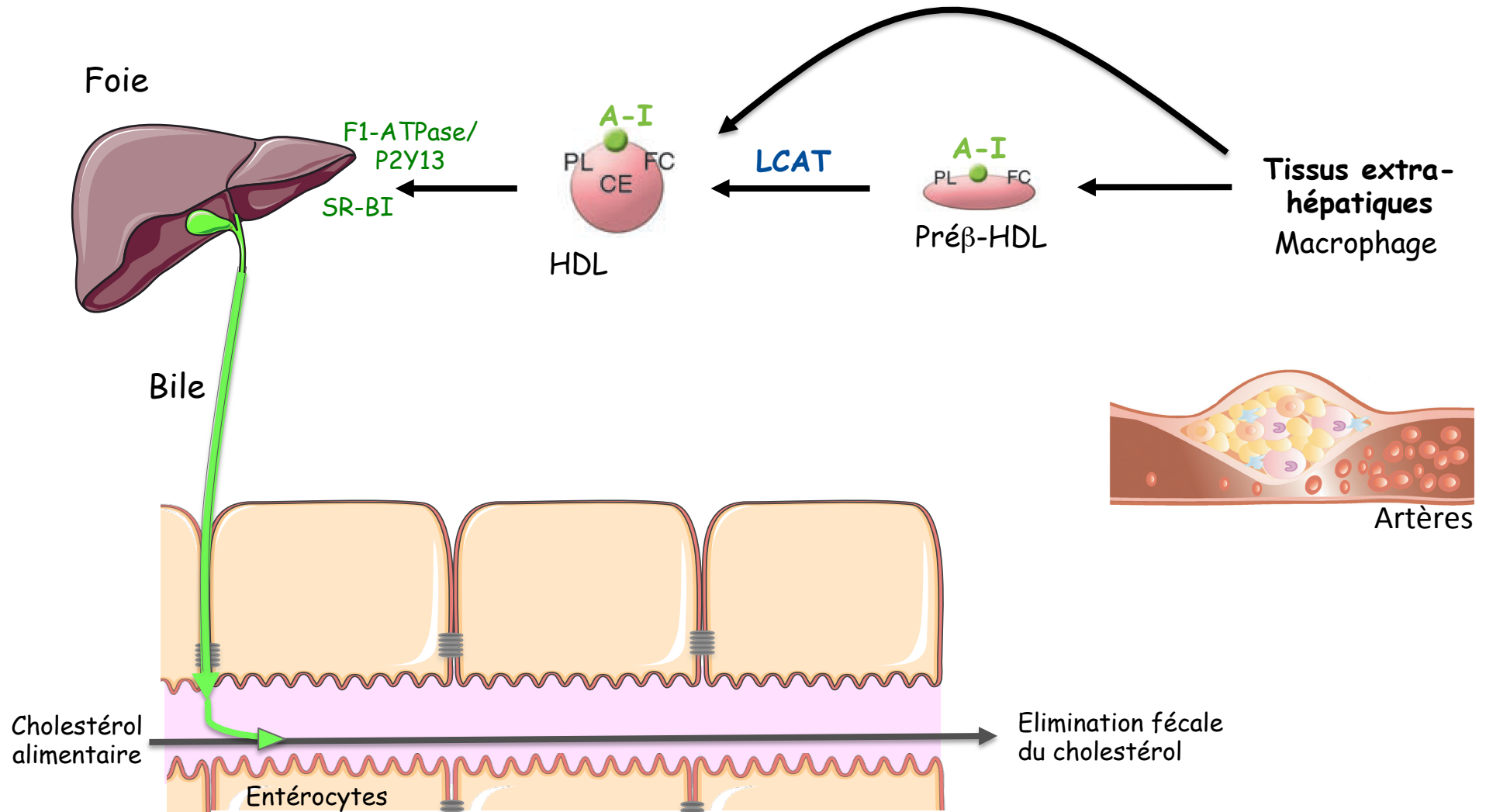
Le transport inverse du cholestérol



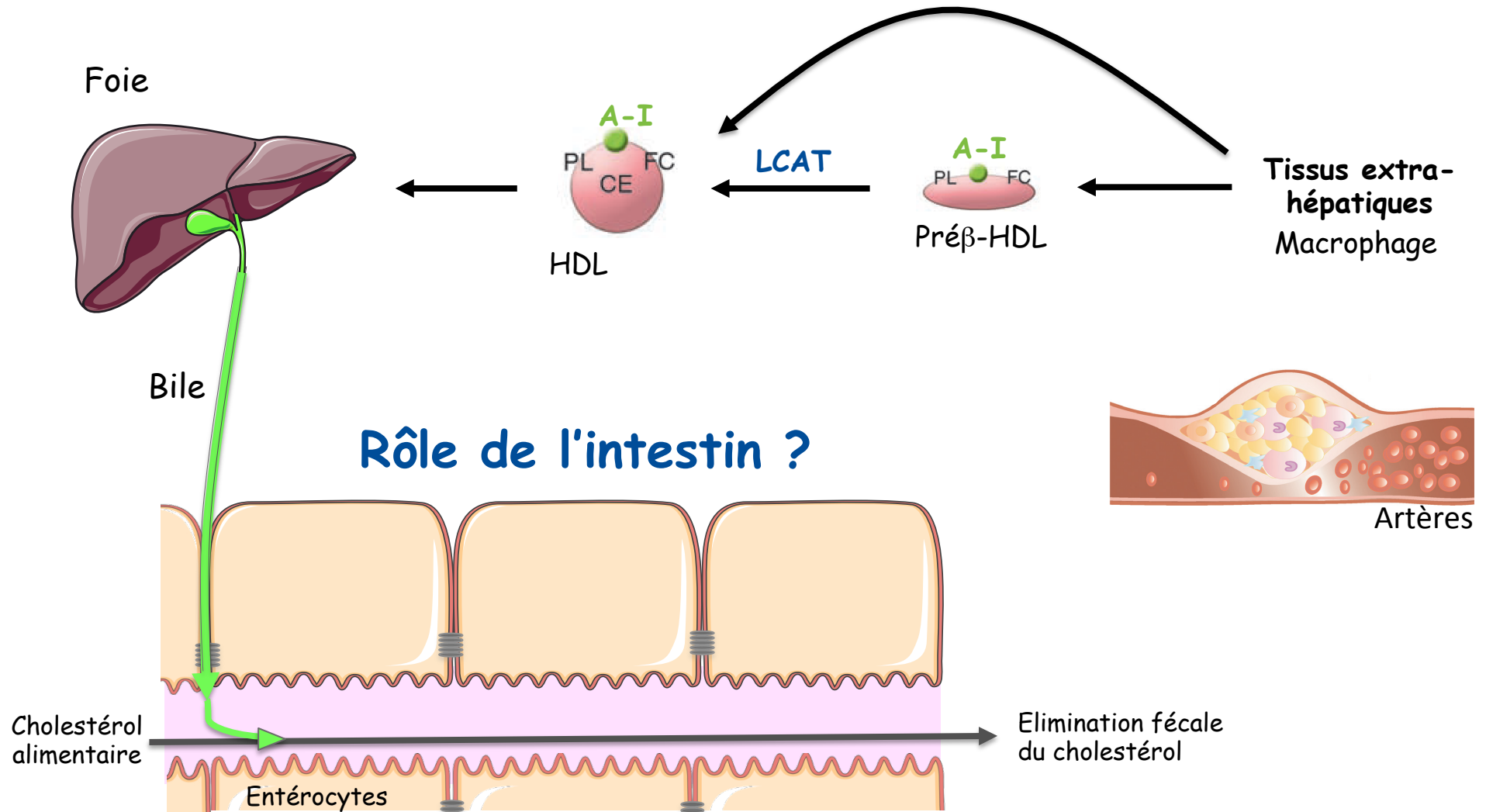
Le transport inverse du cholestérol



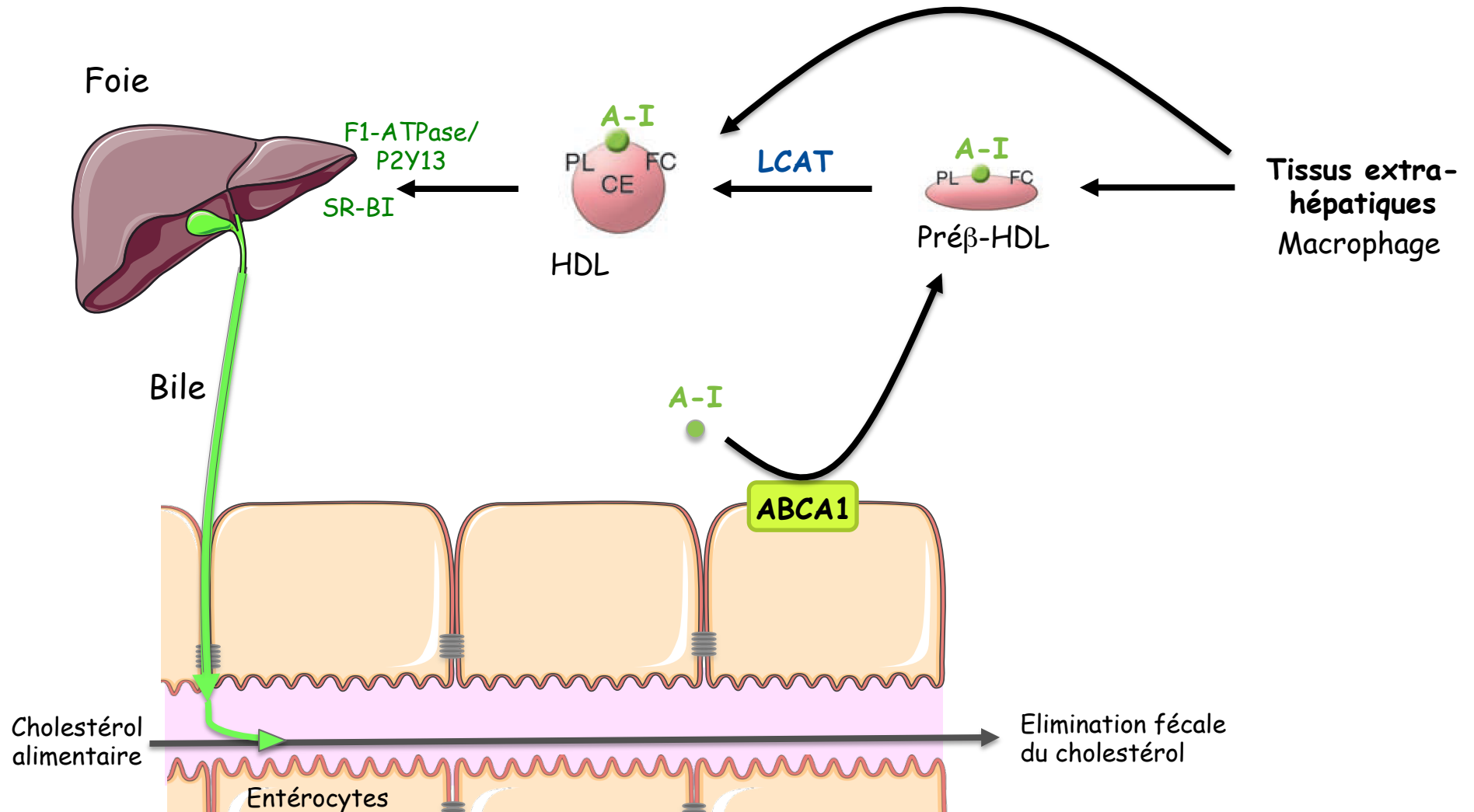
Le transport inverse du cholestérol macrophagique



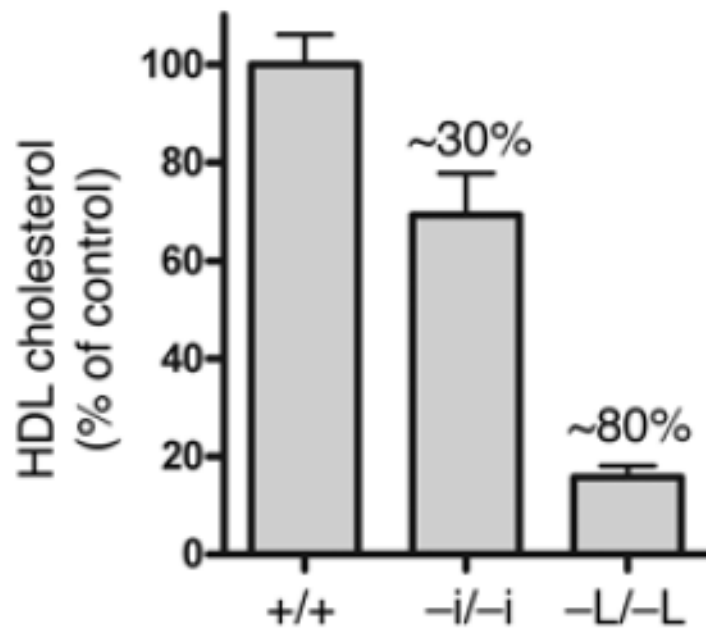
Le transport inverse du cholestérol macrophagique



L'intestin est impliqué dans la synthèse des pré β HDL

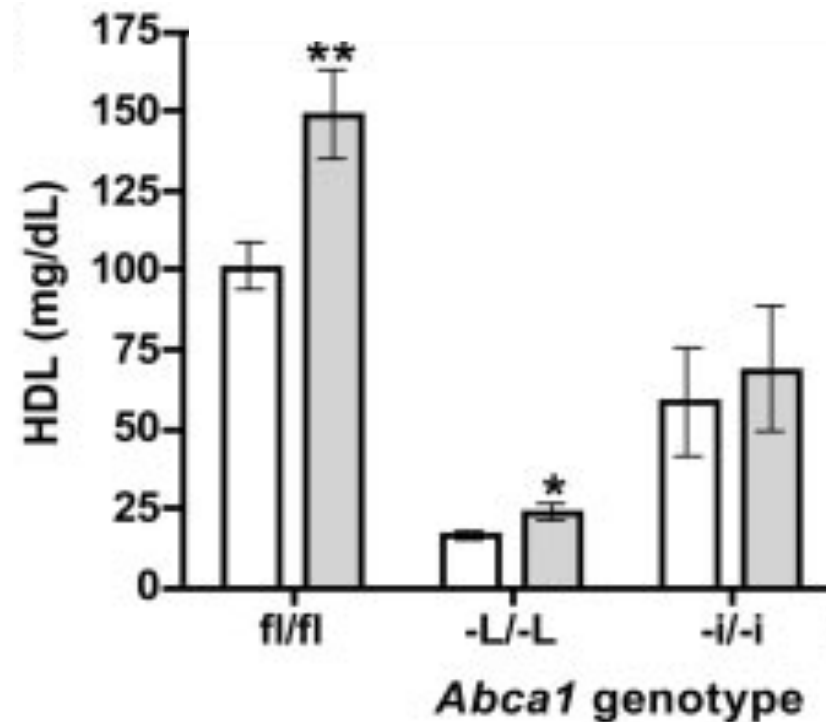
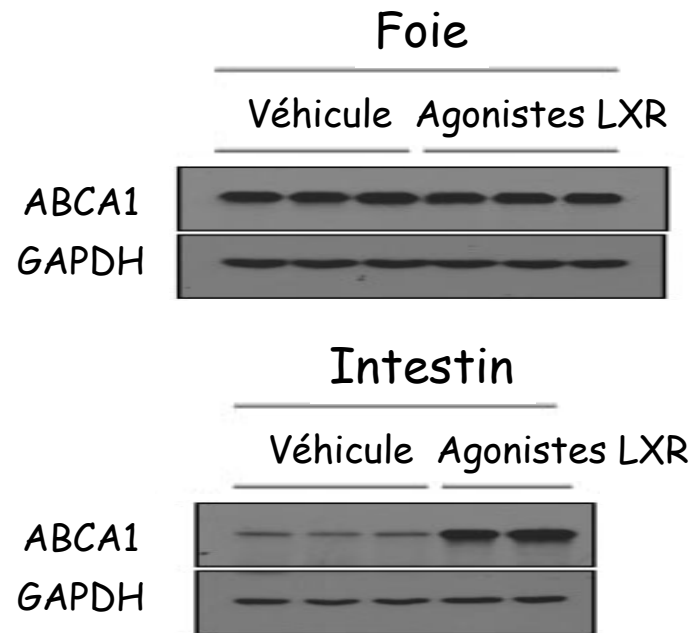


L'intestin contribue à la synthèse de 20-30% des précurseurs d'HDLs



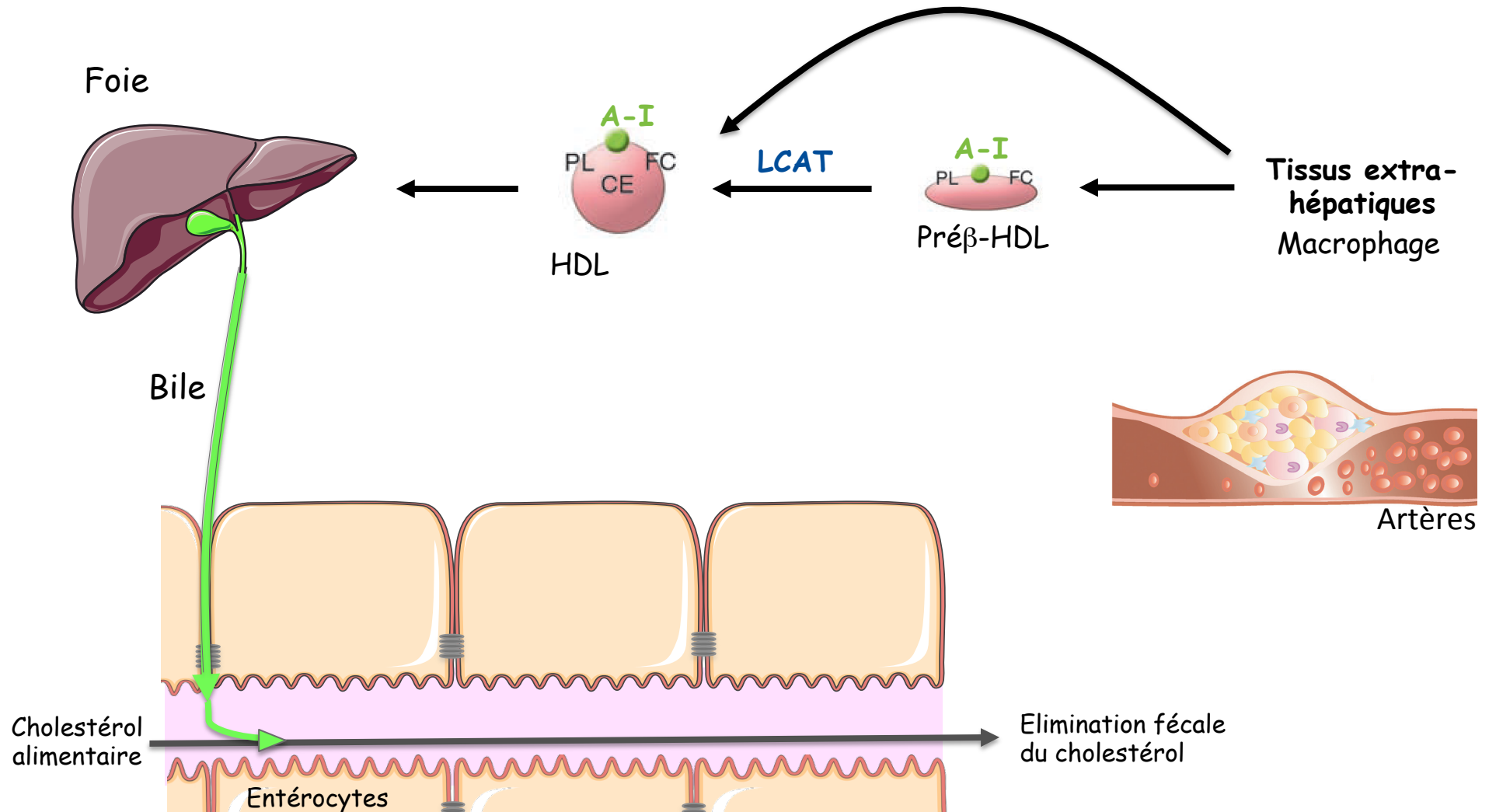
Souris ABCA1 KO dans l'intestin -i/-i
Souris ABCA1 KO dans le foie -L/-L

La stimulation intestinale d'ABCA1 induit les concentrations d'HDLs de 50%



Le transport inverse du cholestérol macrophagique

La vision Classique: hépatobiliaire



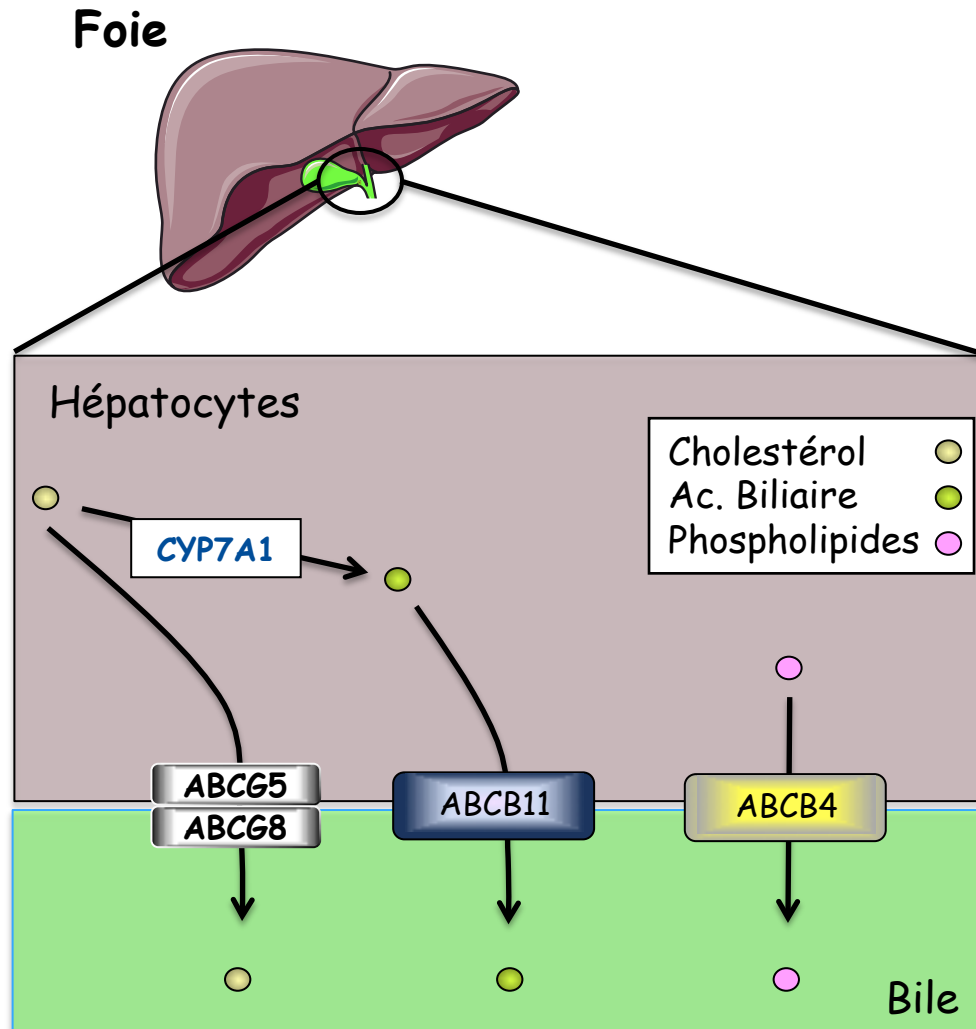
Preuves indirectes de l'existence d'une voie complémentaire à la voie hépatobiliaire

Des chiens nourris avec un régime dépourvus de lipides et présentant une dérivation du canal biliaire ont une quantité anormalement élevée de cholestérol dans leur fèces.

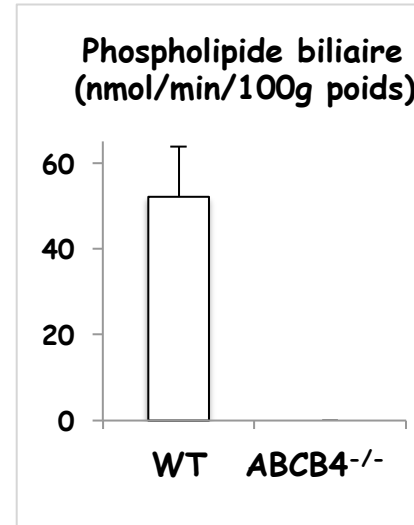
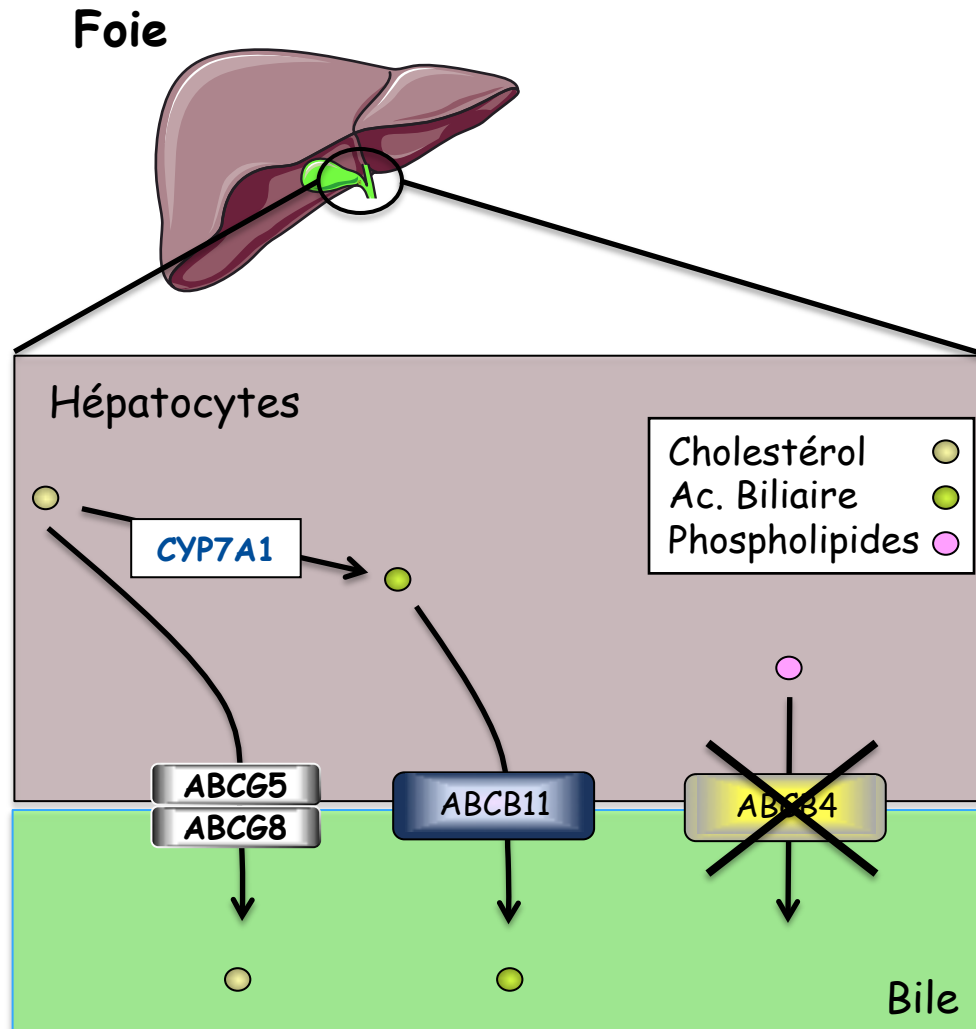
Sperry WM – JBC 1927

Pertsemlidis D et al – JCI 1973

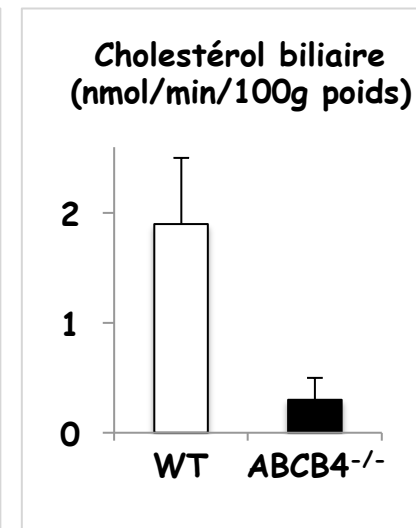
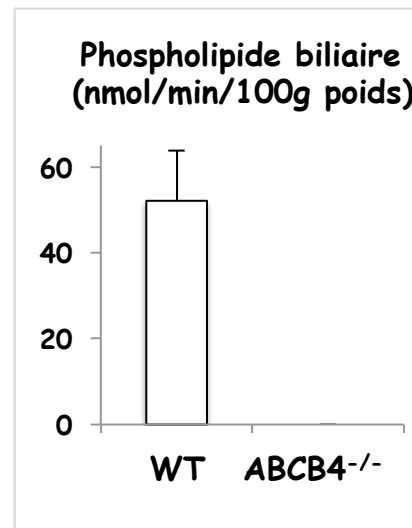
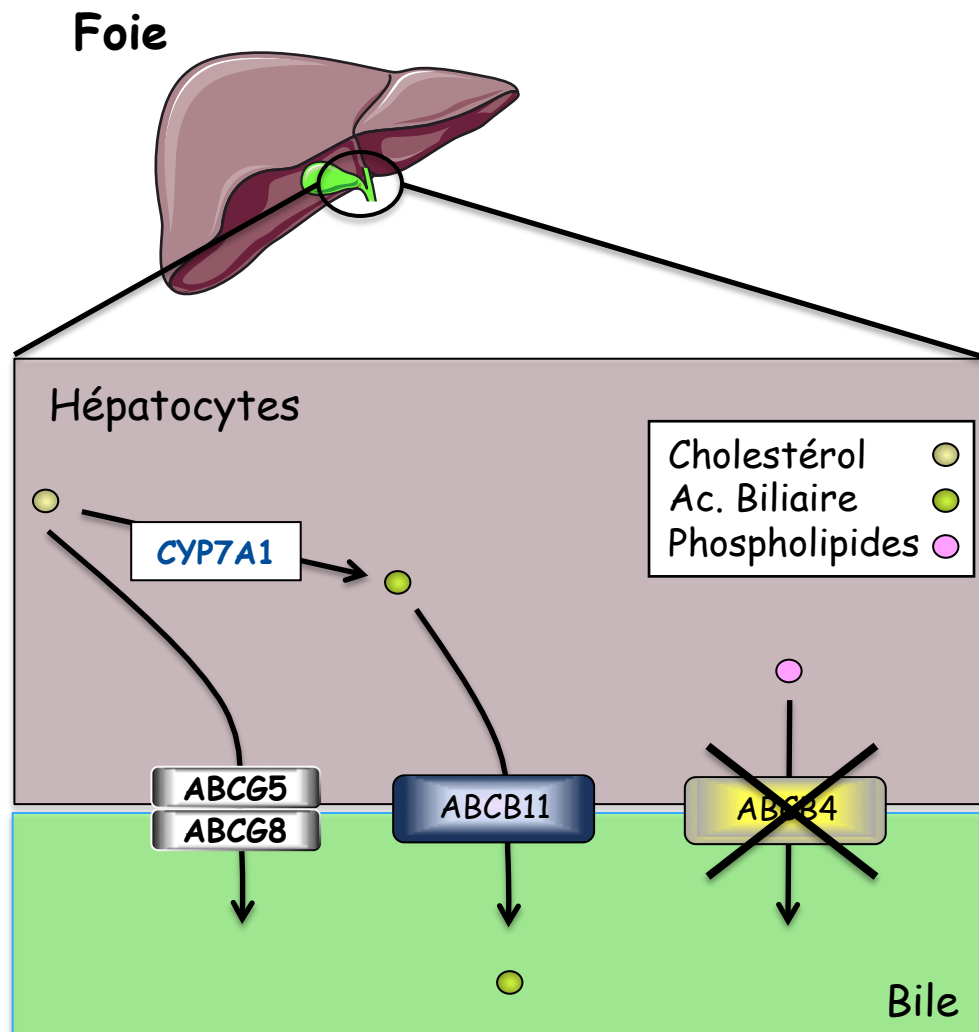
La délétion d'ABCB4 chez la souris entraîne...



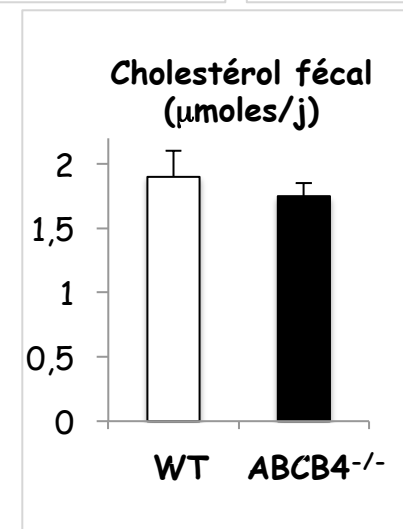
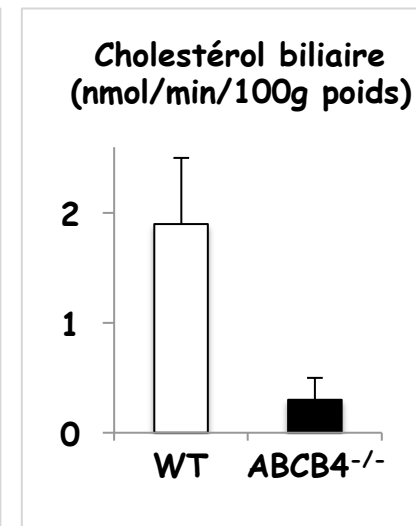
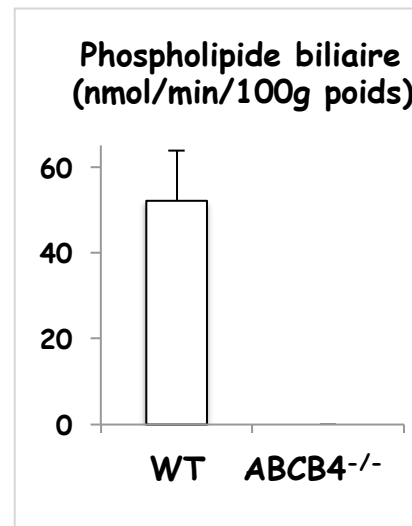
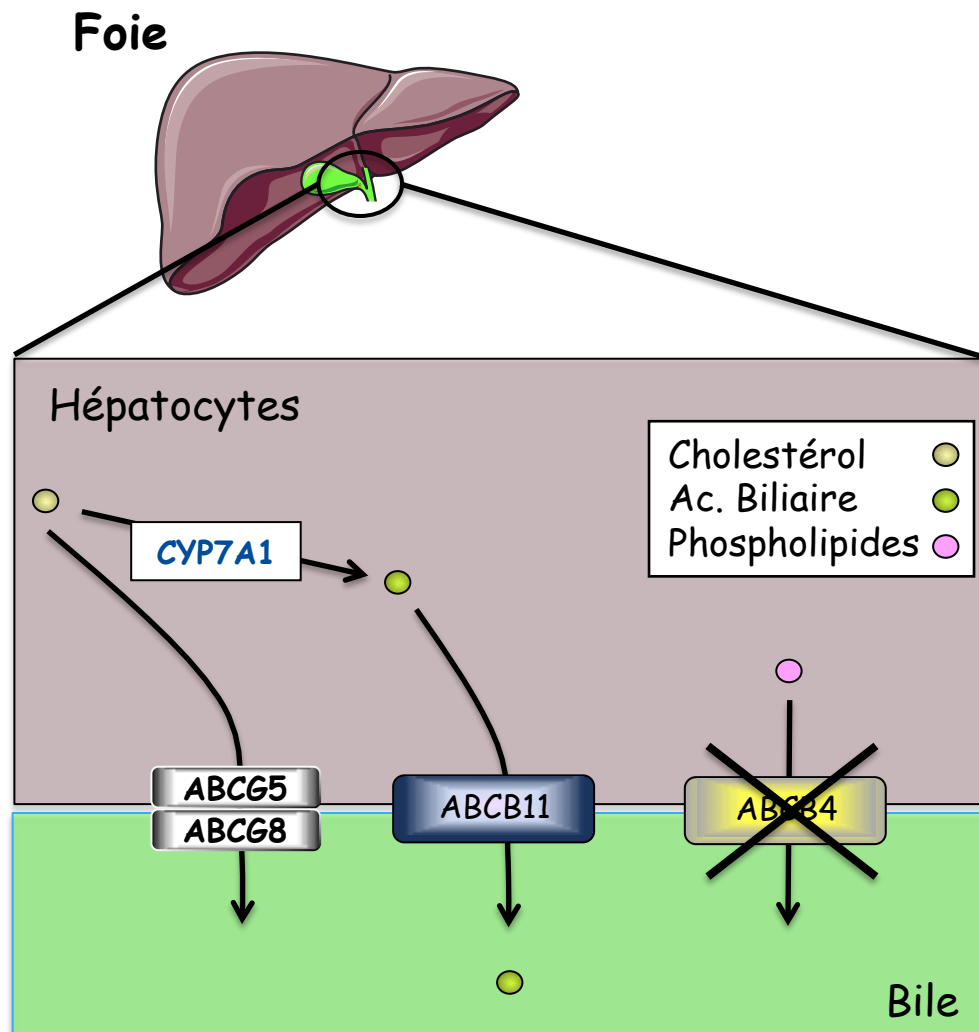
La délétion d'ABCB4 chez la souris entraîne...
une absence d'excrétion biliaire de phospholipides...



La délétion d'ABCB4 chez la souris entraîne... une réduction majeure d'excrétion biliaire de cholestérol...



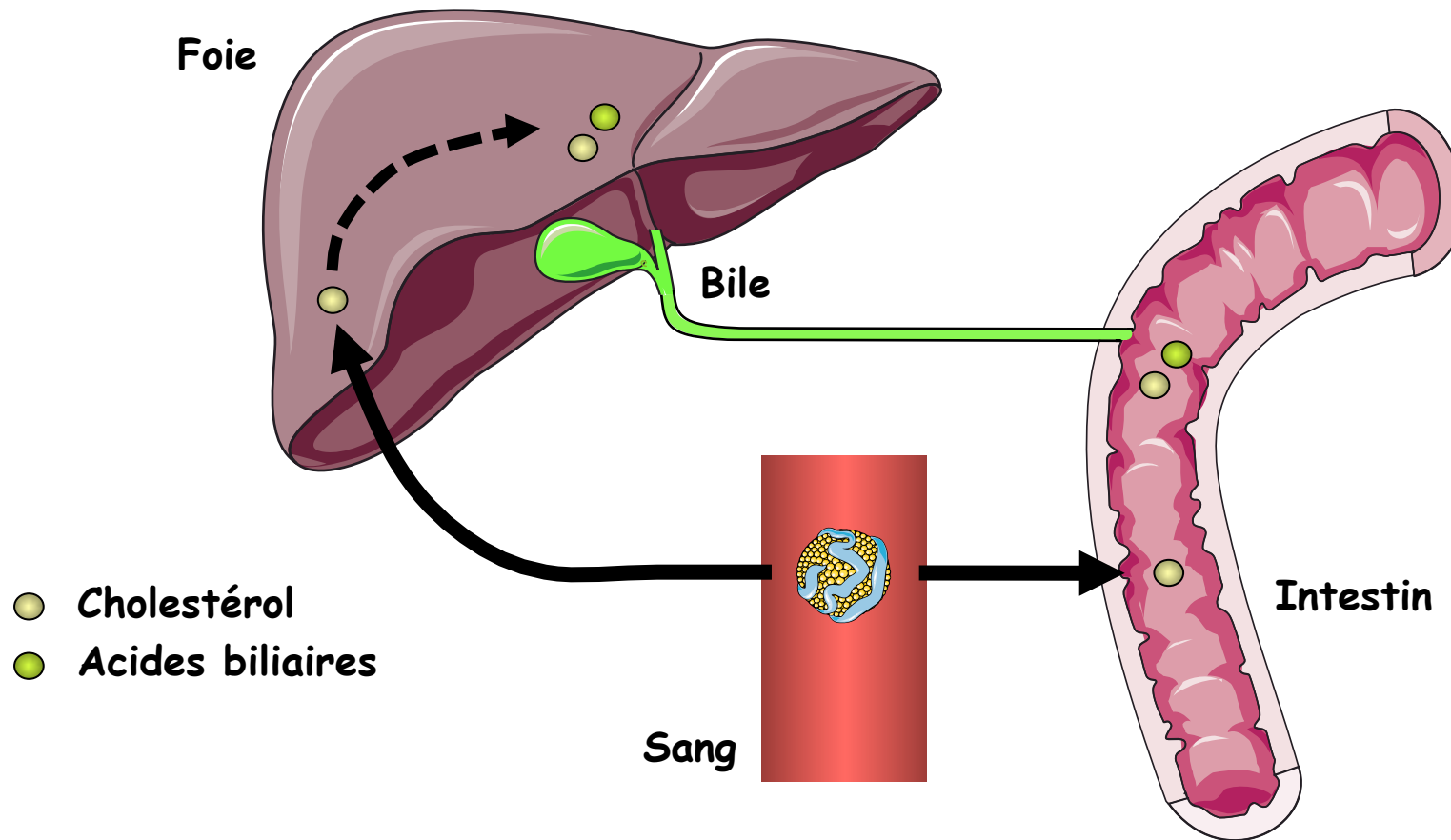
...mais une excrétion fécale inchangée



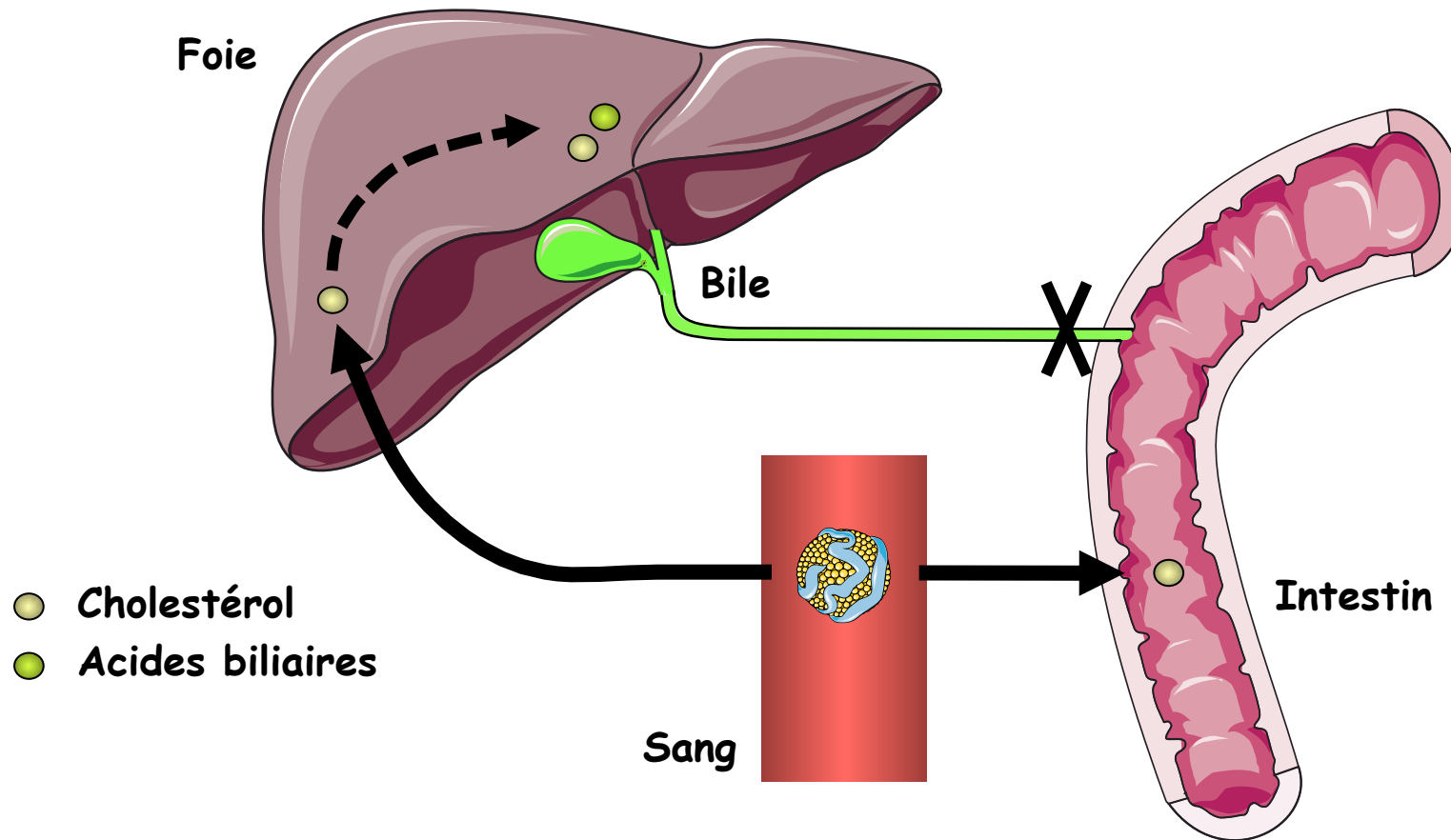
Existence d'un découplage entre l'excrétion biliaire et fécale de cholestérol

Animal Model	Cholesterol in Bile	Neutral Sterol Excretion
<i>Mdr2</i> ^{-/-} vs wild-types	6- to 19-fold decreased*	Not changed or slightly increased
<i>Abcg8</i> ^{-/-} vs C57Bl6	2.5-fold decreased*	Unchanged
ABCG5/G8 ^{-/-} vs controls	~7-fold decreased†	Unchanged
<i>Abcg5</i> ^{-/-} vs controls	~3-fold decreased†	Unchanged
ACAT2 ASO vs control	Unchanged†‡	2.1-fold increased
ACAT2 ^{-/-} vs control	Unchanged†‡	2.1-fold increased
<i>Abca1</i> ^{-/-} vs control	Unchanged*†‡	Not changed or slightly increased
NPC1L1 ^{Liver-Tg} vs control	~4- to 20-fold decreased†	Unchanged
NPC1L1 ^{-/-} vs controls	Unchanged†	7.3-fold increased
GW3965 vs control diet (in <i>Mdr2</i> ^{-/-})	Unchanged*	2.1-fold increased
Cyp7A1 ^{-/-} vs Cyp7a1 ^{+/+}	Unchanged†	2.3-fold increased
Bile-diverted rat	No biliary cholesterol entering the intestine	2.2-fold increased

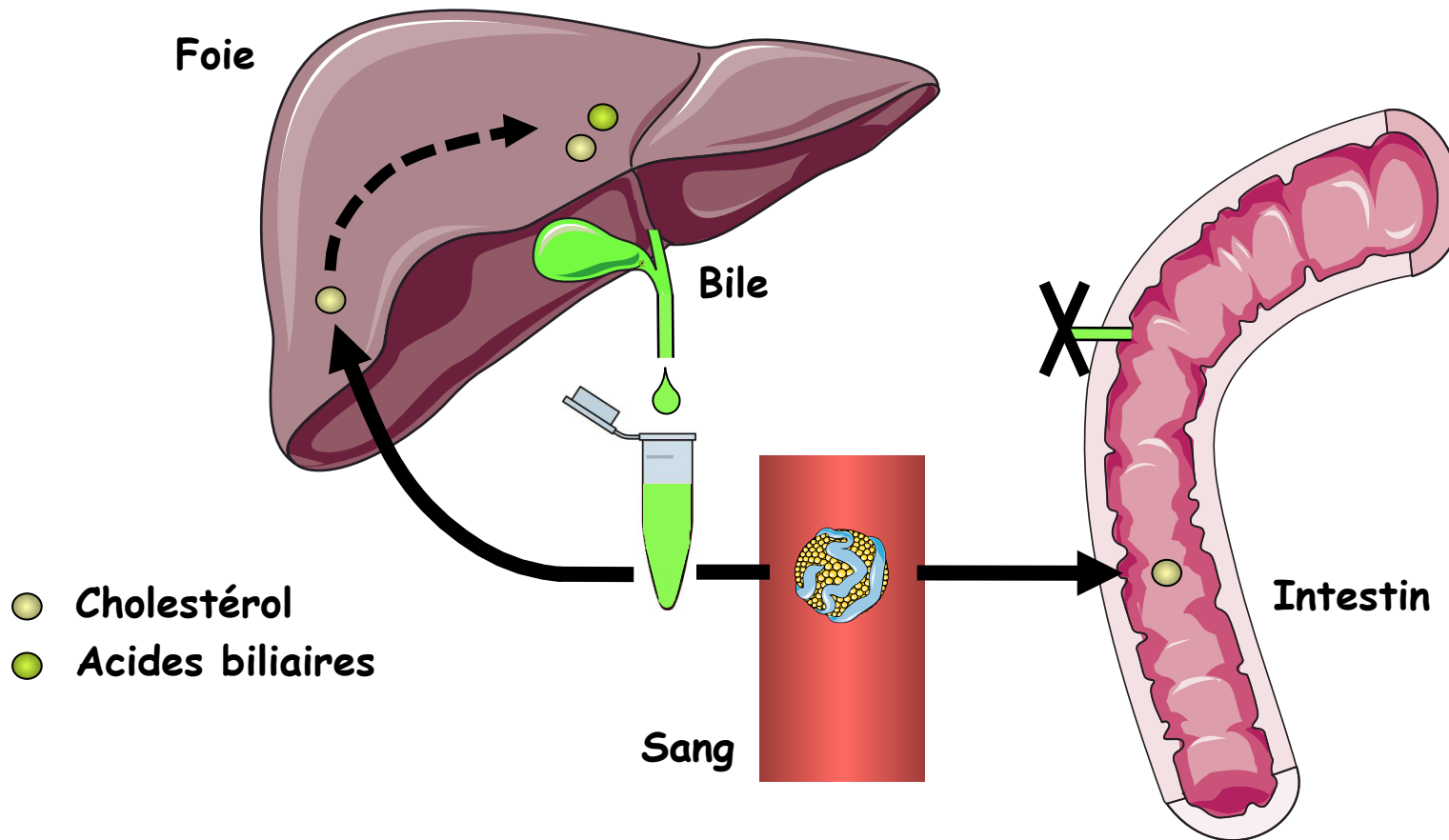
Mise au point d'une approche de cannulation *in vivo*
pour démontrer de l'existence d'une voie d'excrétion intestinale



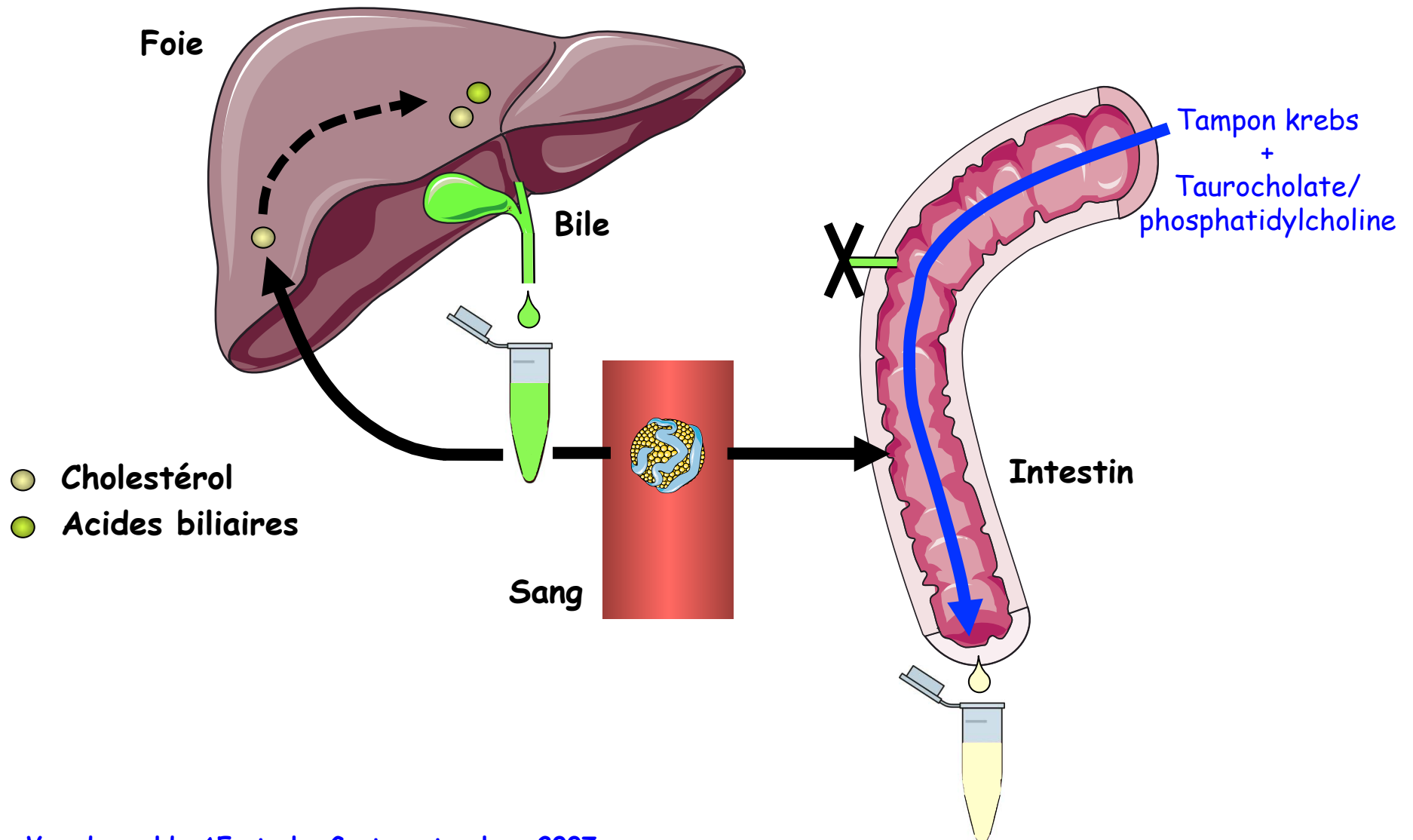
Mise au point d'une approche de cannulation *in vivo*
pour démontrer de l'existence d'une voie d'excrétion intestinale



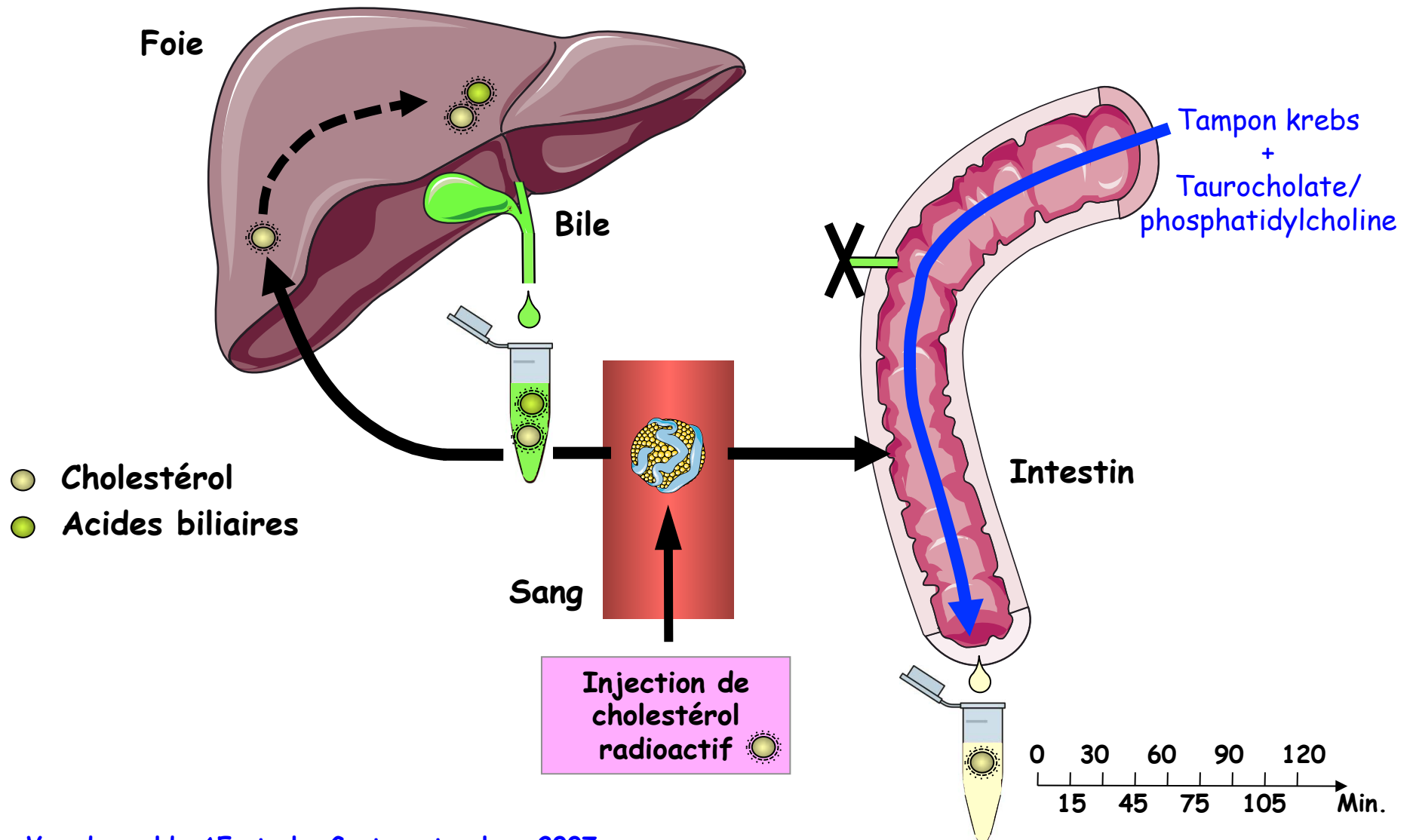
Mise au point d'une approche de cannulation *in vivo*
pour démontrer de l'existence d'une voie d'excrétion intestinale



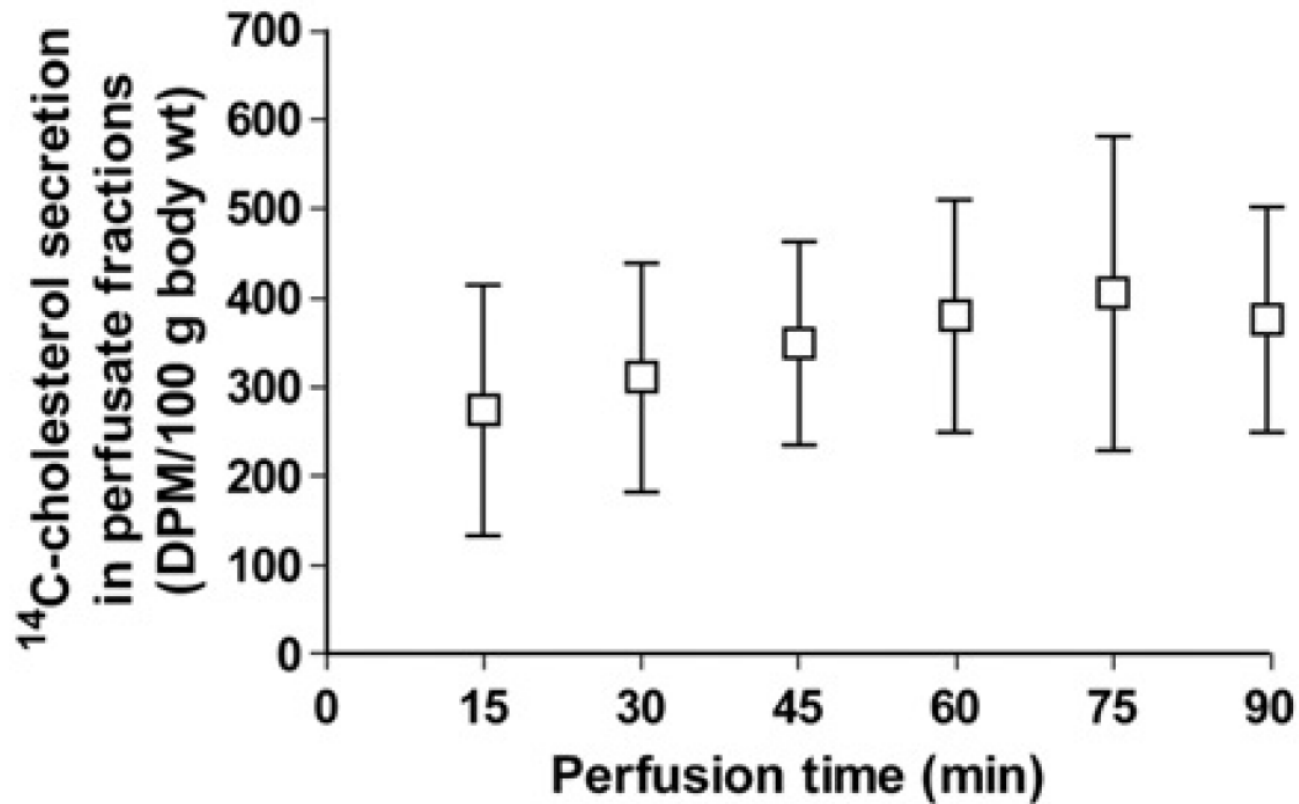
Mise au point d'une approche de cannulation *in vivo*
pour démontrer de l'existence d'une voie d'excrétion intestinale



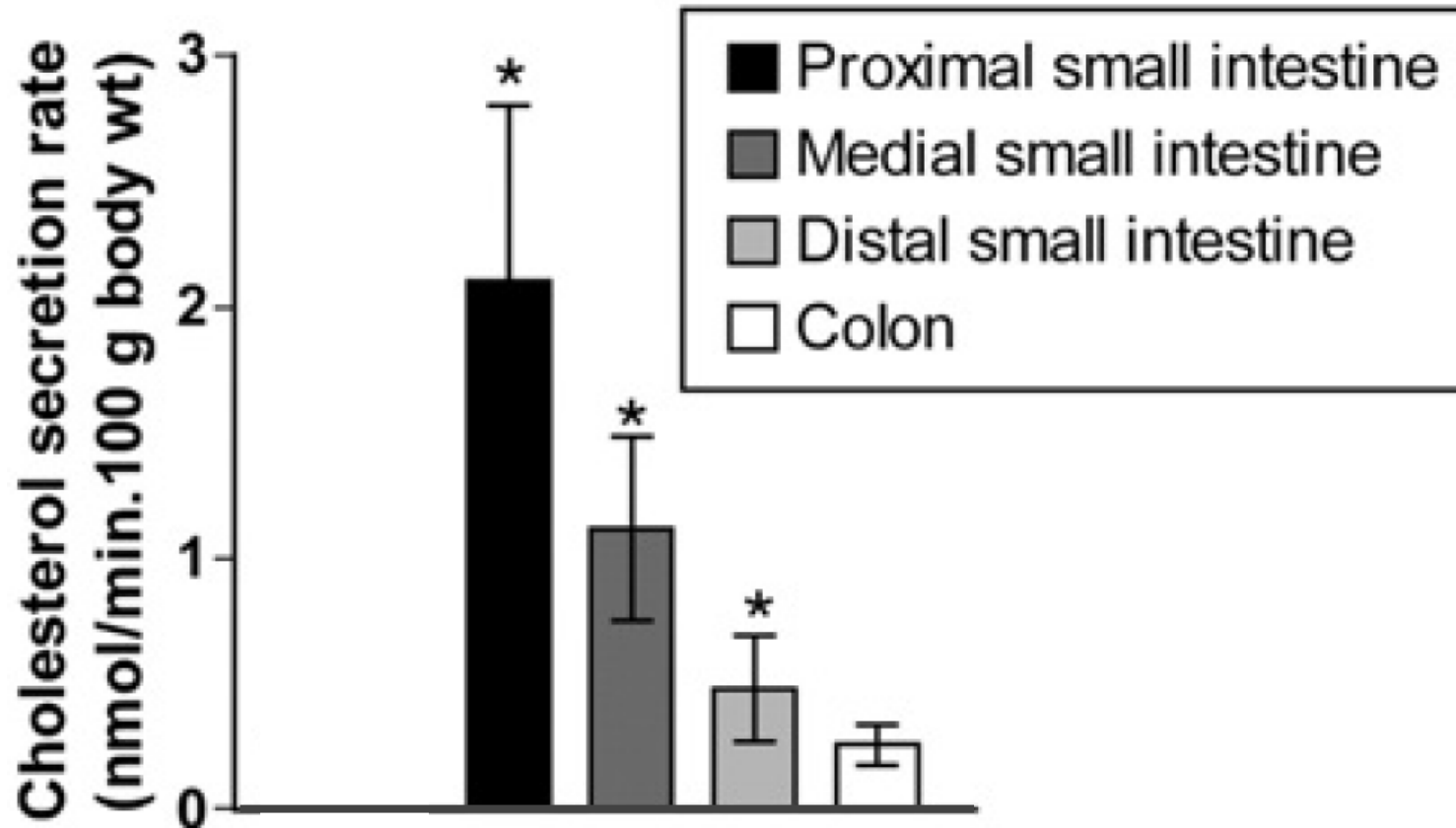
Mise au point d'une approche de cannulation *in vivo*
pour démontrer de l'existence d'une voie d'excrétion intestinale



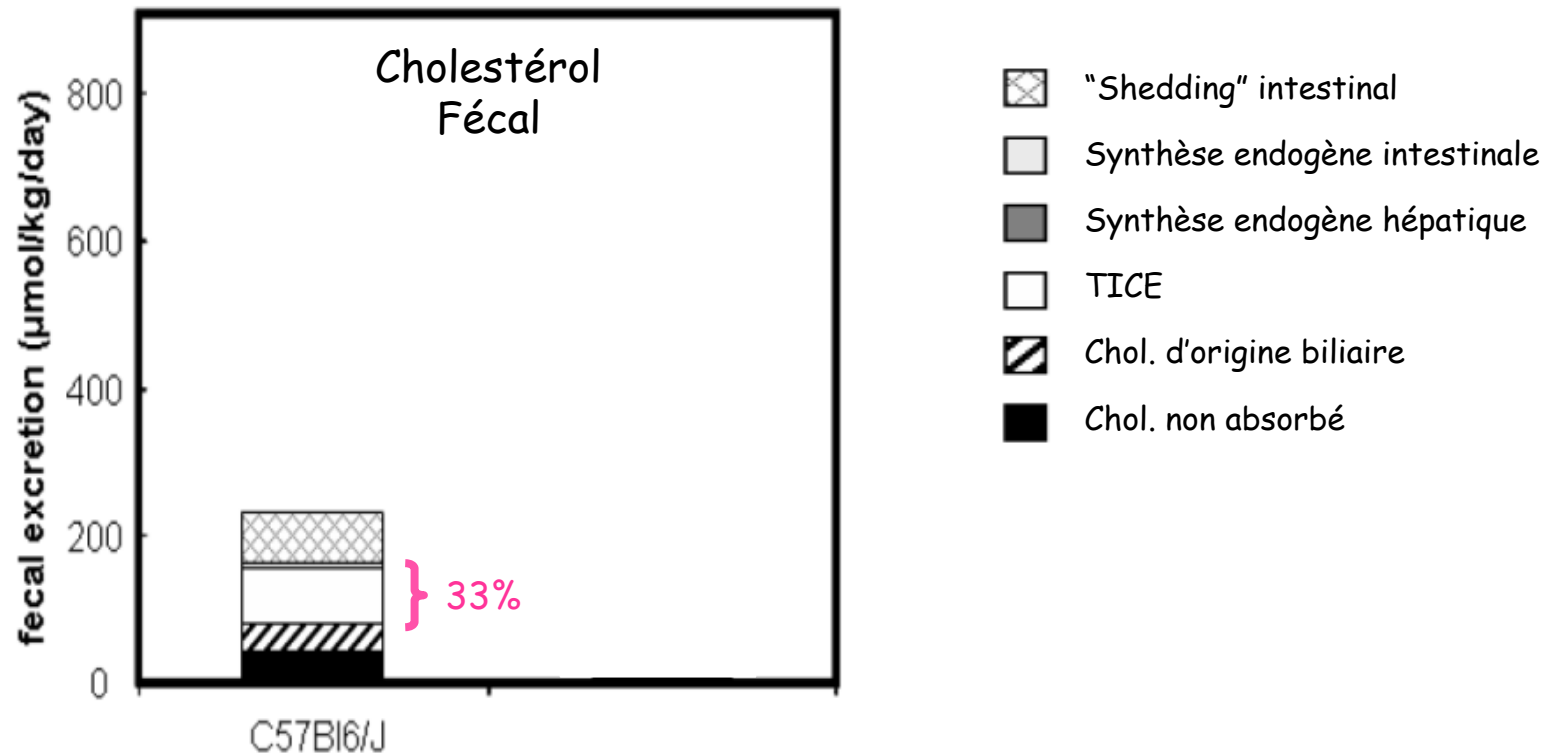
Le cholestérol plasmatique est rapidement excrété par l'intestin et de façon directe



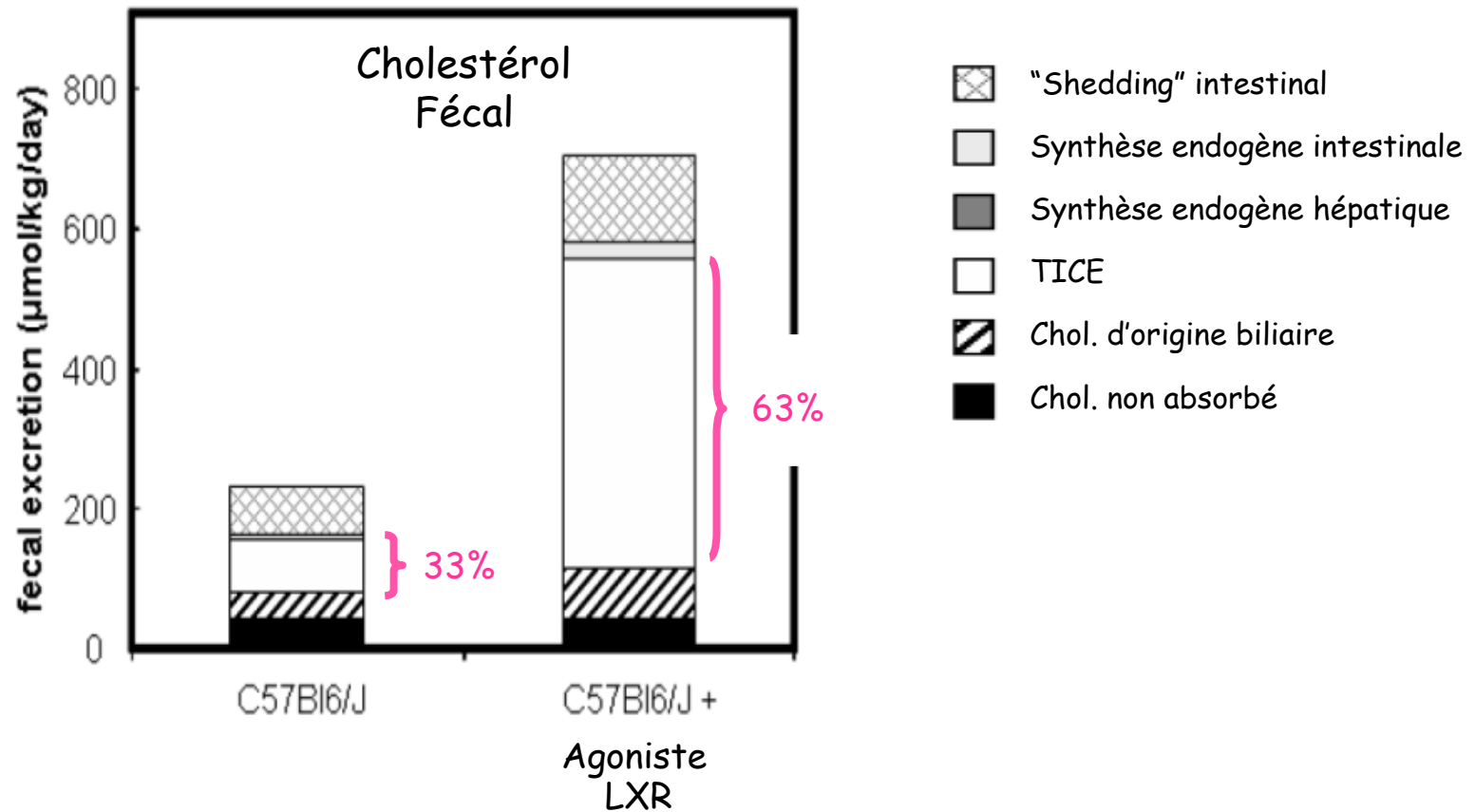
L'activité maximale du TICE est localisée dans la partie proximale de l'intestin



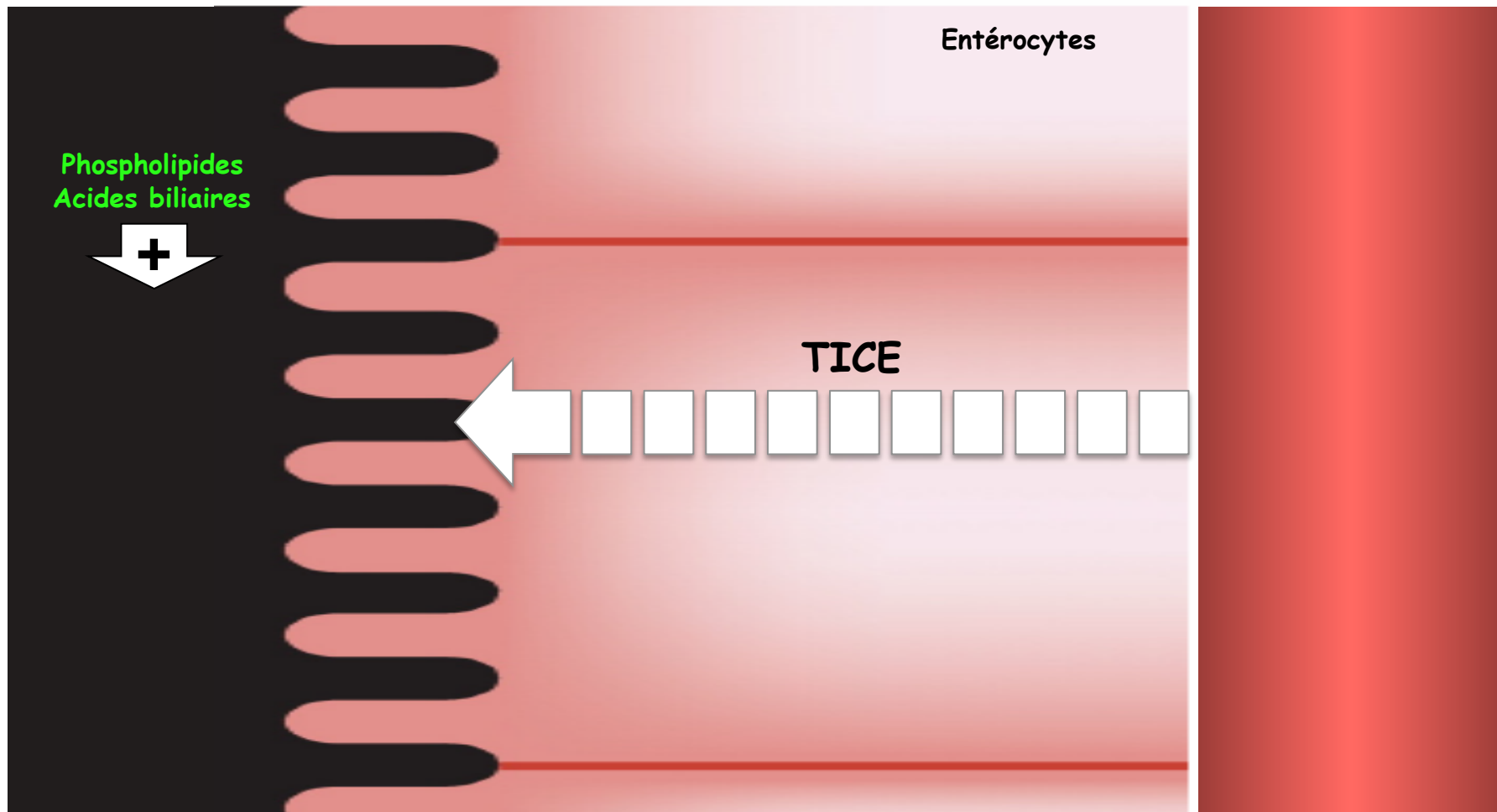
Le TICE est la voie majoritaire d'épuration du cholestérol plasmatique chez la souris



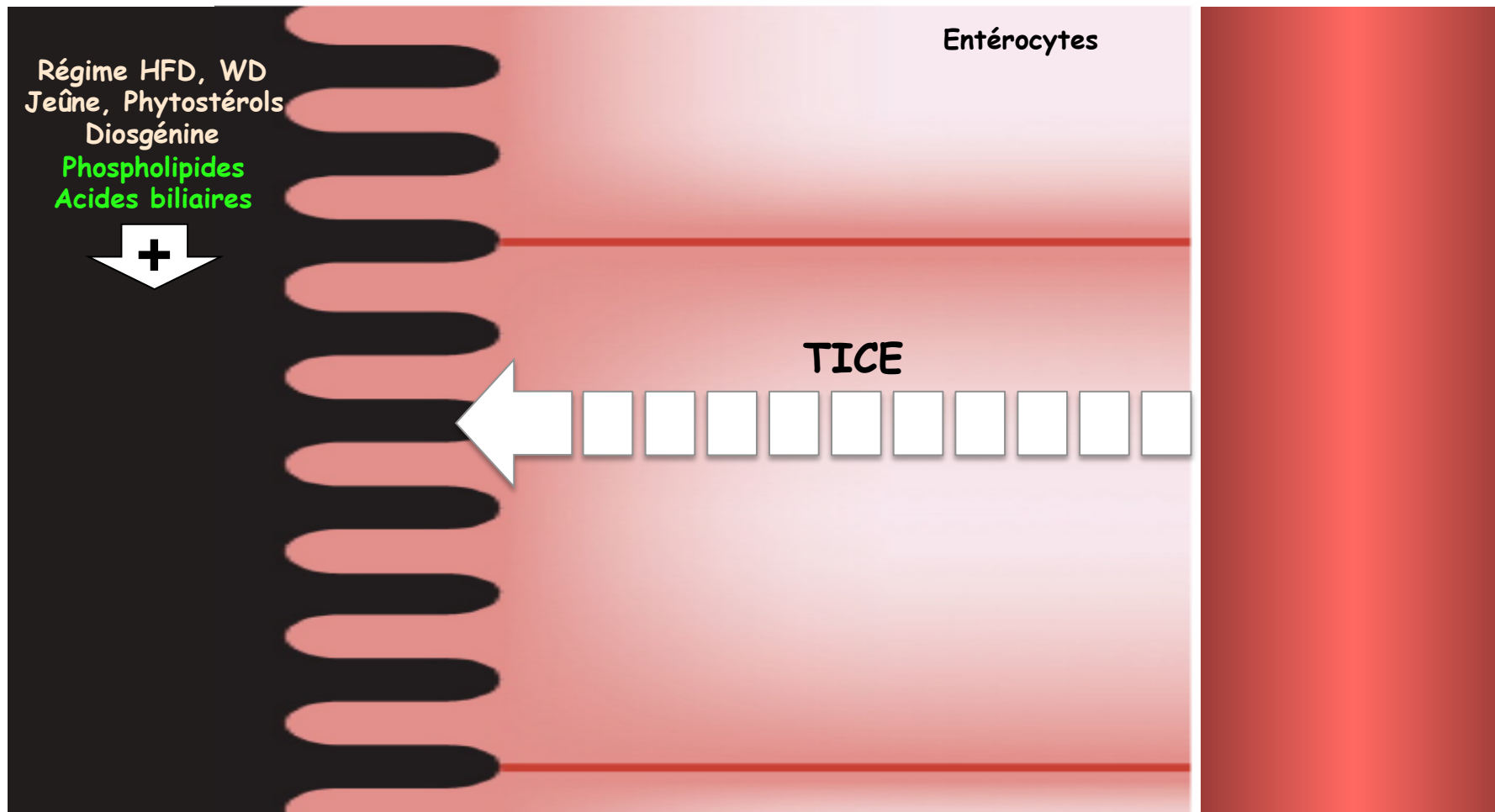
L'excrétion fécale de cholestérol est induite par les récepteurs LXR via une voie TICE dépendante



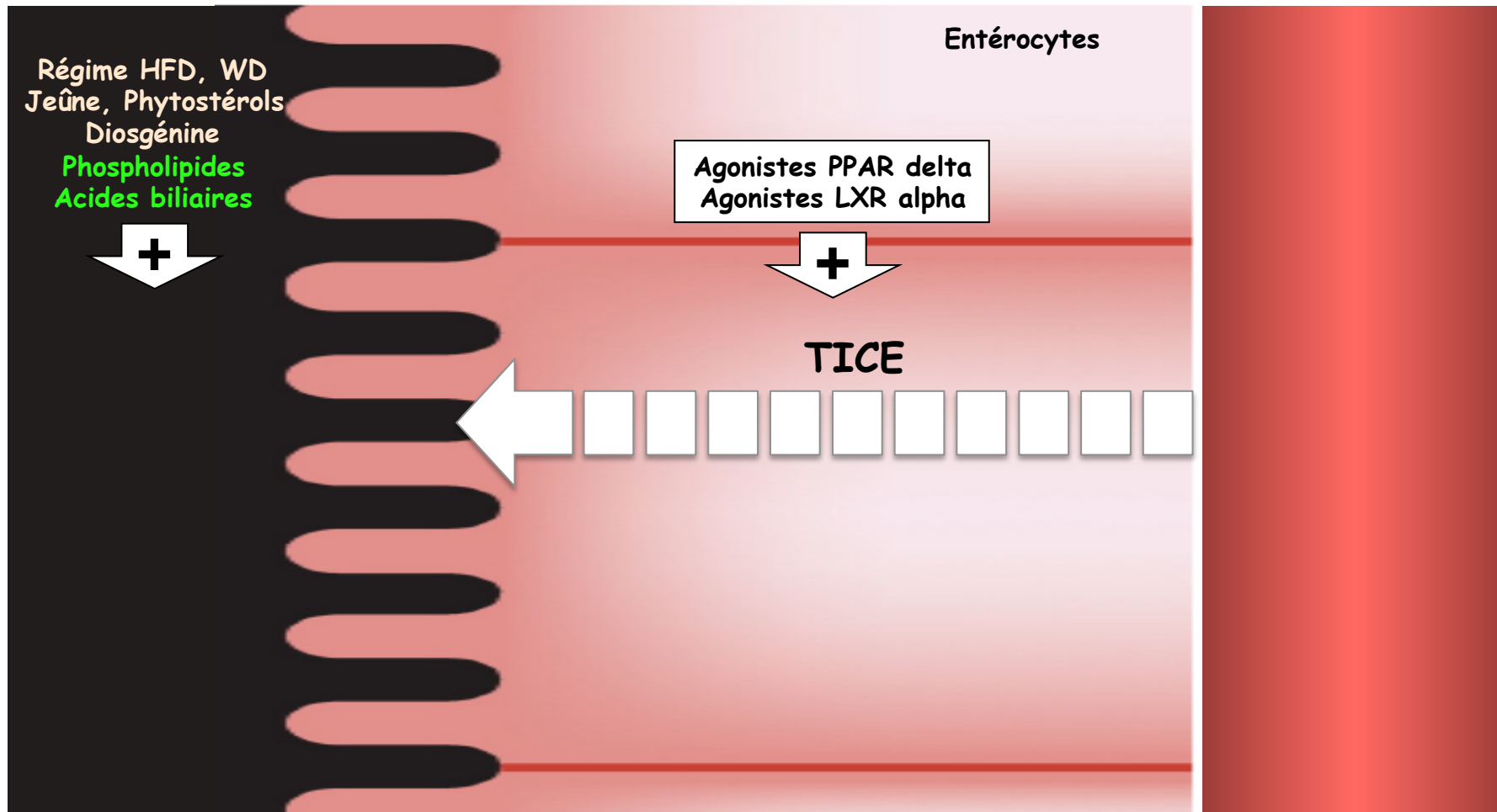
Connaissances actuelles sur le TICE



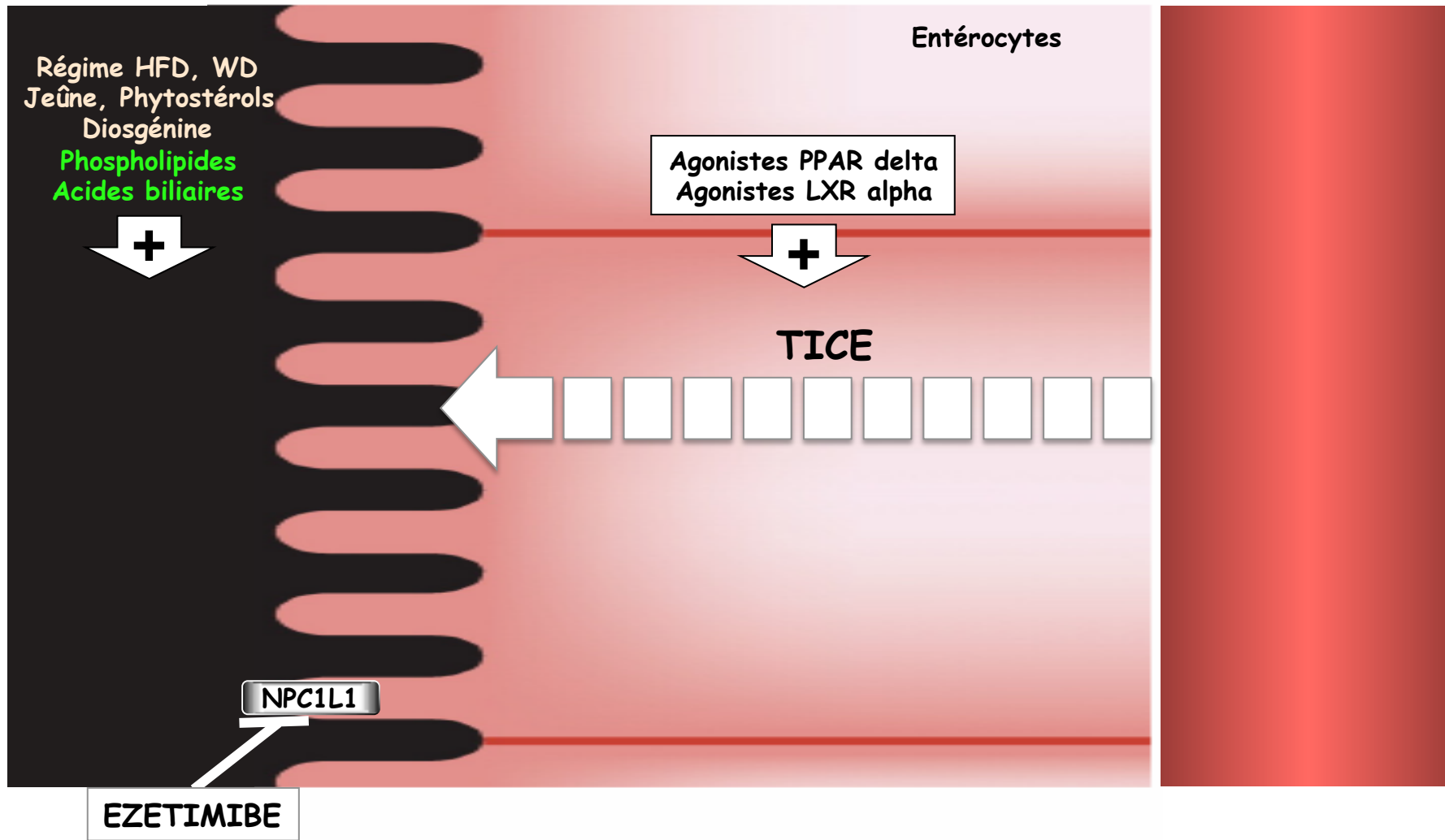
Connaissances actuelles sur le TICE



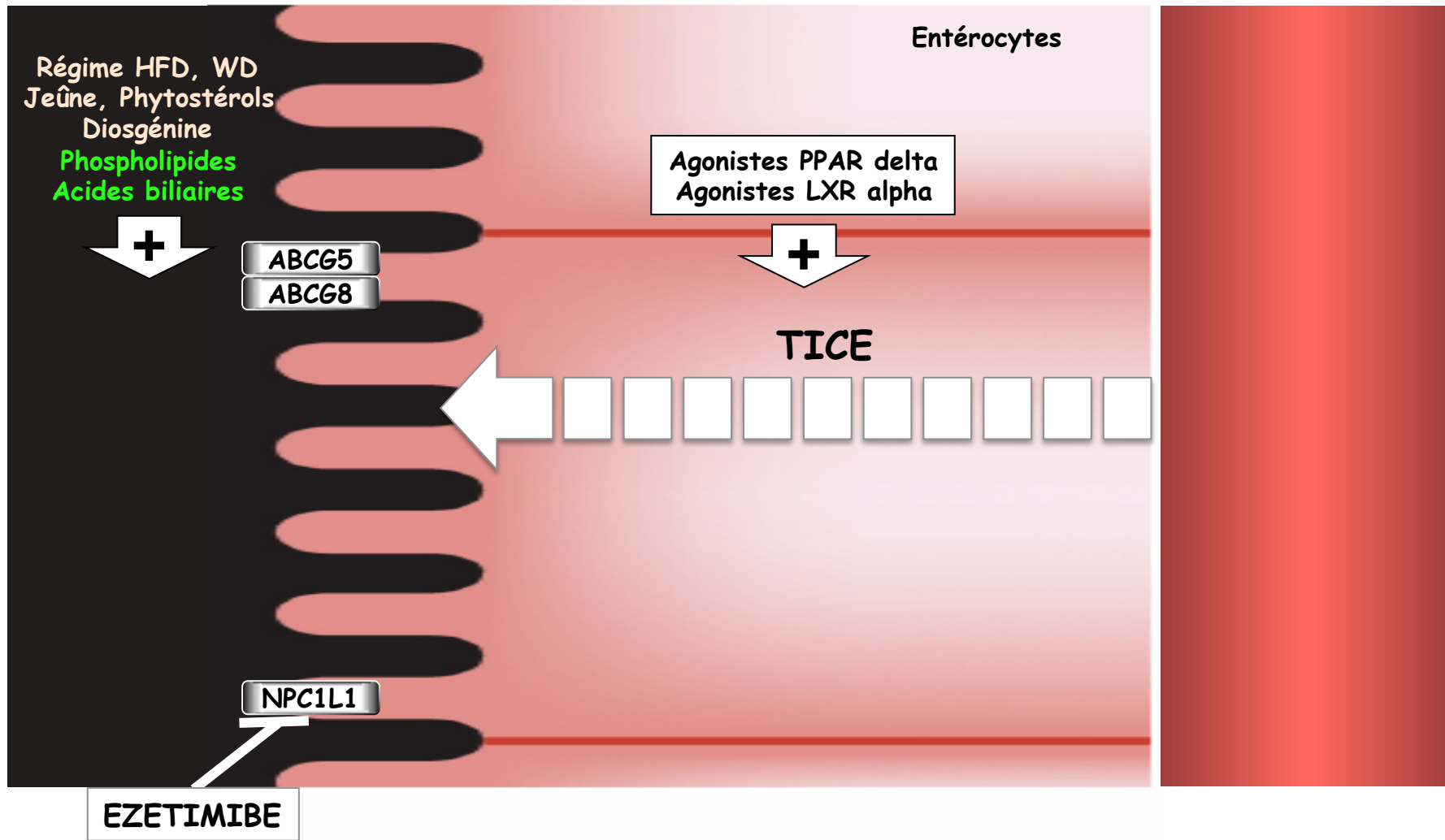
Connaissances actuelles sur le TICE



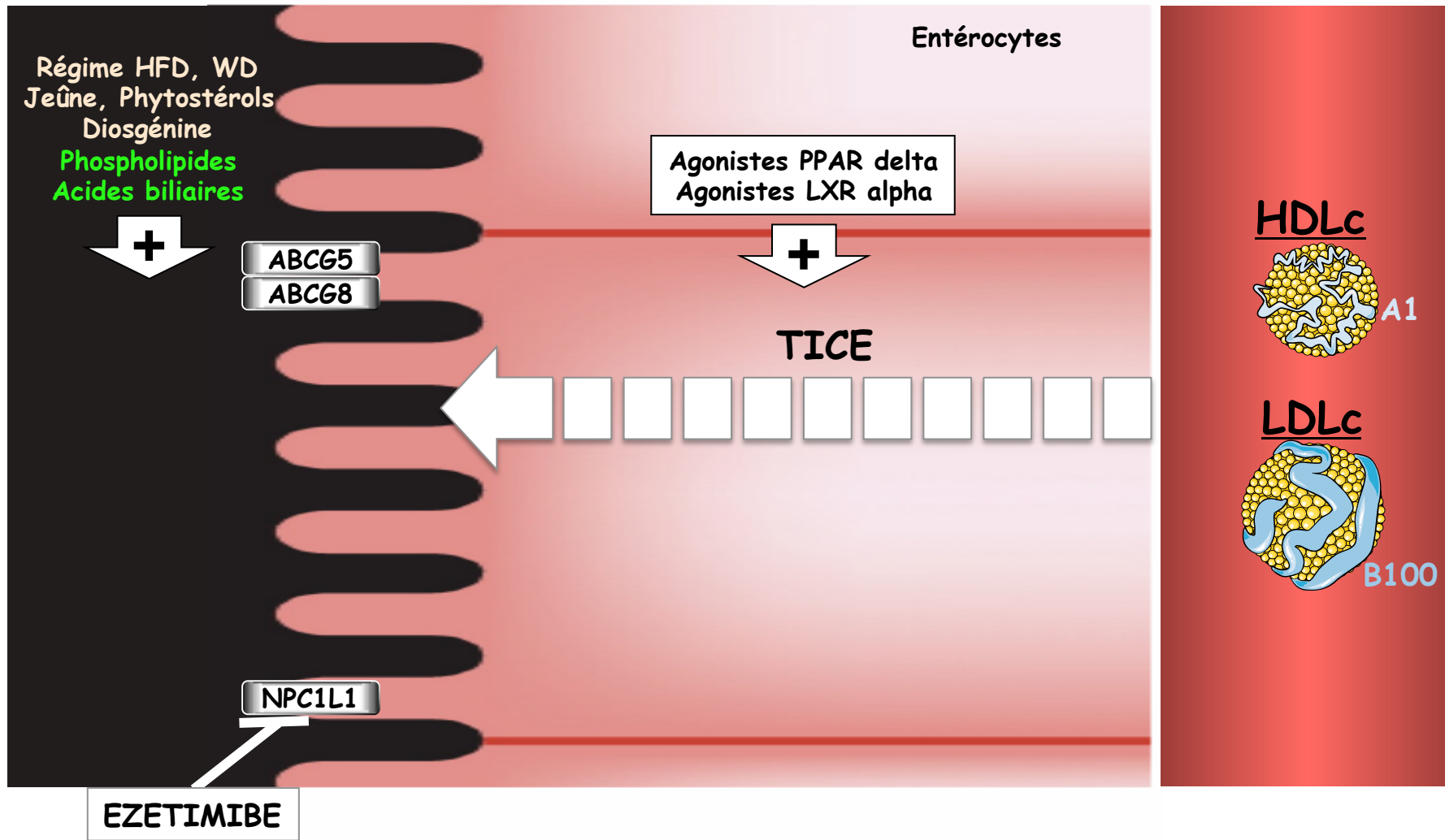
Connaissances actuelles sur le TICE



Connaissances actuelles sur le TICE

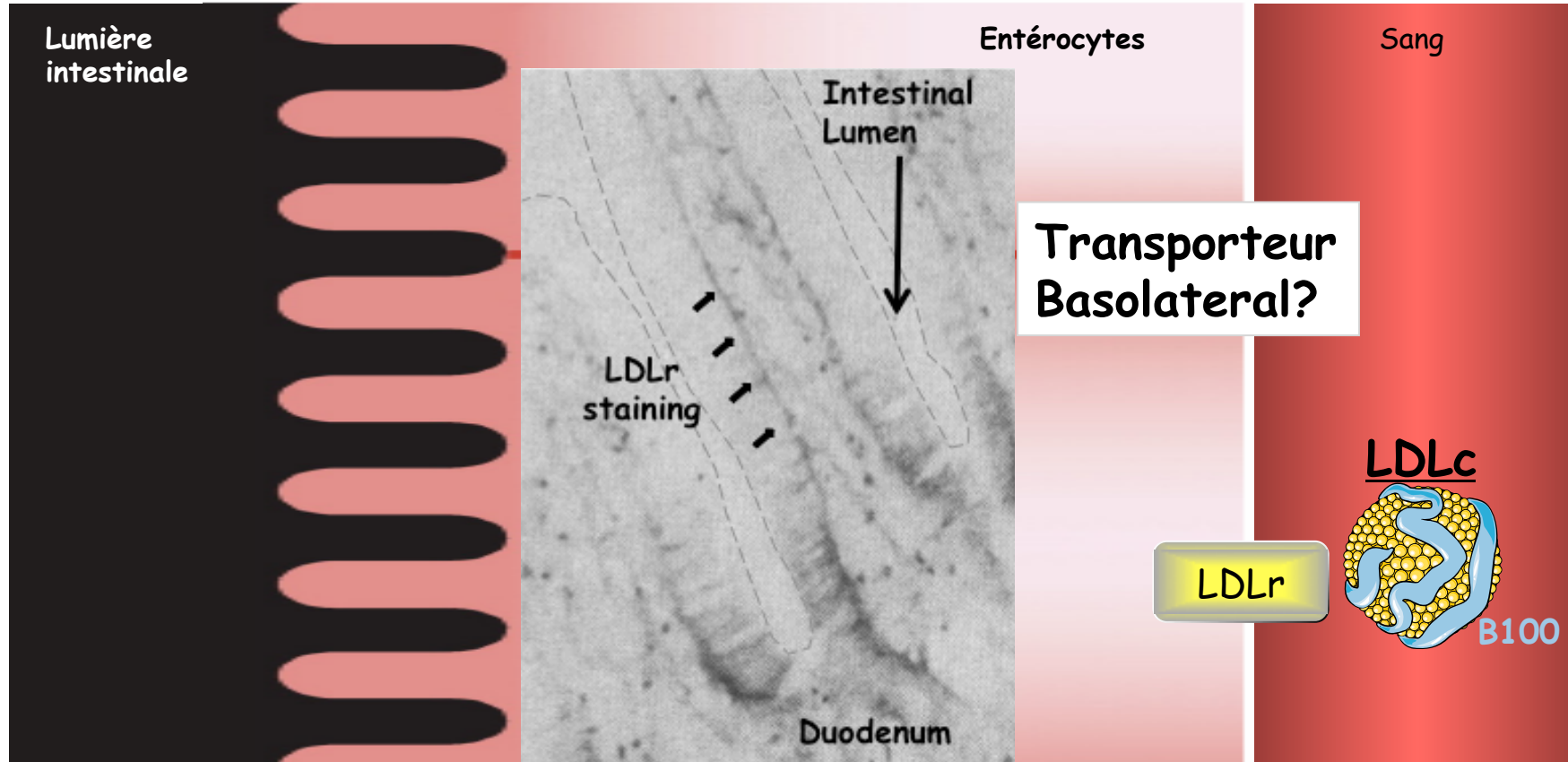


Connaissances actuelles sur le TICE



Transporteur basolatéral

Role du récepteur au LDL?



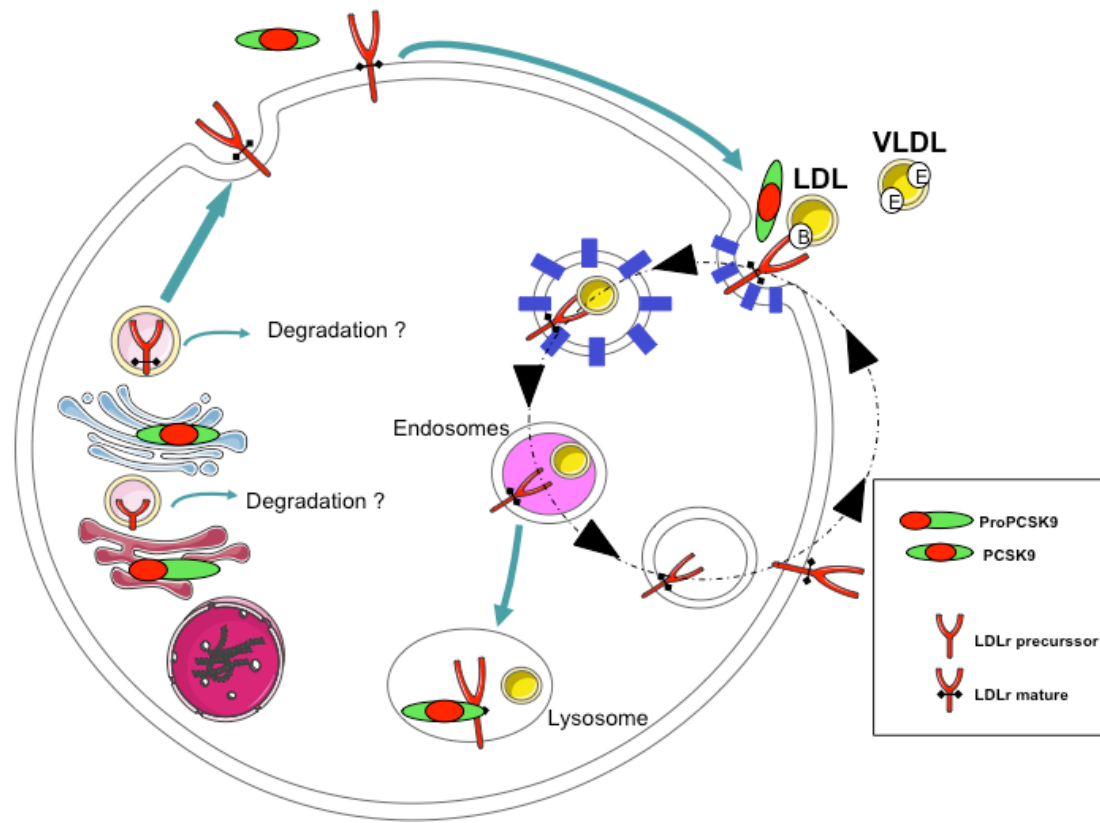
Le LDLr est exprimé et localisé du côté basolatéral des entérocytes

Fong LG et al. JCI 1989

Chez le rat: Au niveau intestinal, 60% du captage des LDL est dépendant du LDLr

Stange EF et al. PNAS 1983

PCSK9 est un inhibiteur naturel du LDLr

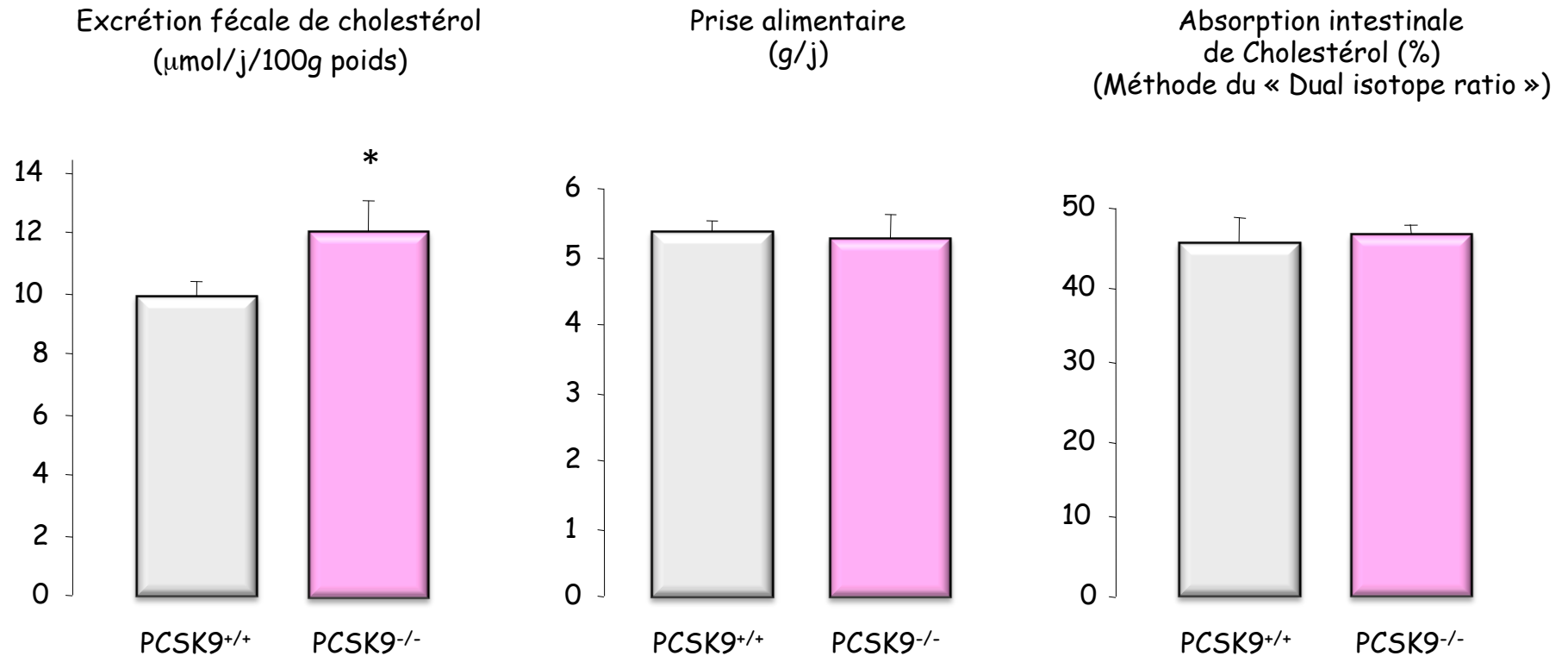


D'après Costet P et al.
Trends Biochem Sci. 2008

Les souris $PCSK9^{-/-}$ ont une expression accrue du LDLr (X3) au niveau de l'intestin proximal

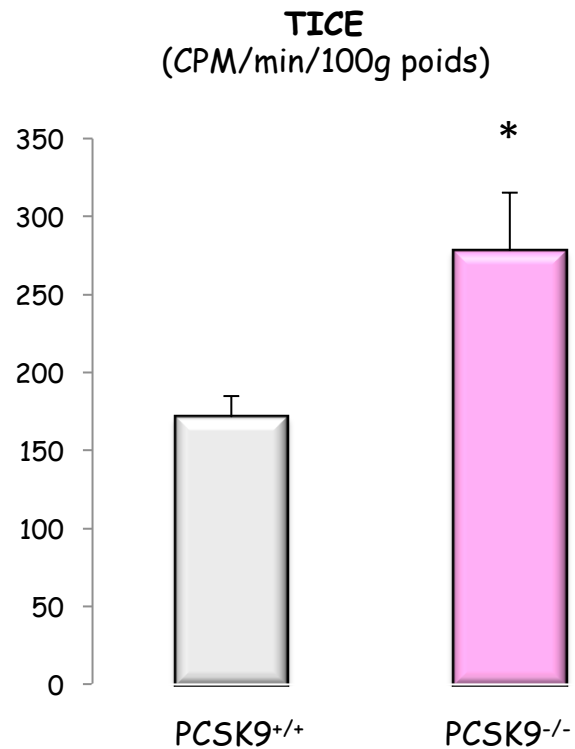
Le May C et al. *ATVB* 2009

L'excrétion fécale de cholestérol est augmenté chez les souris PCSK9^{-/-}

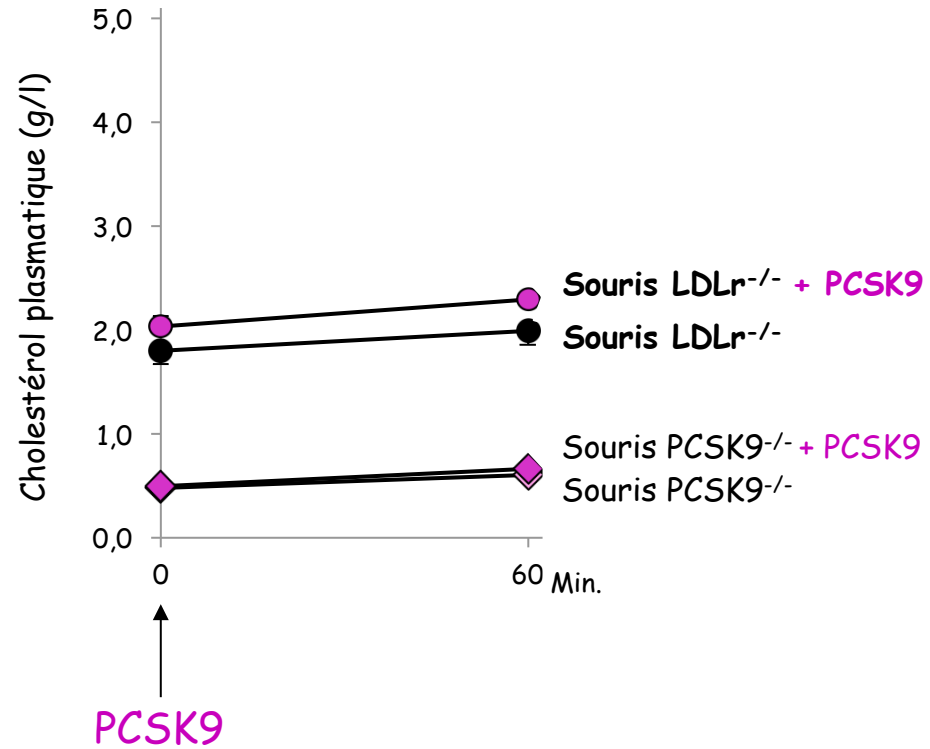


Le TICE est augmenté chez les souris PCSK9^{-/-}

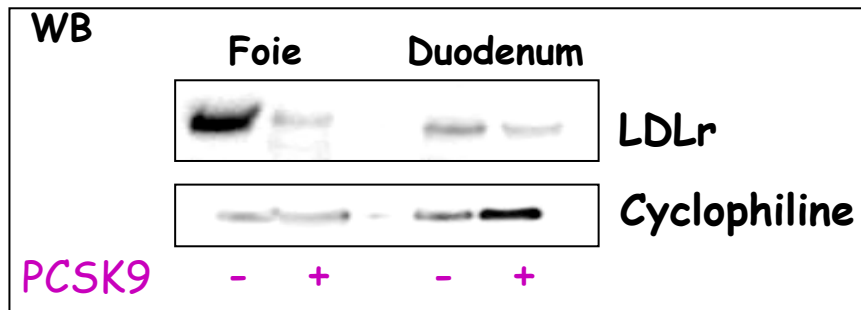
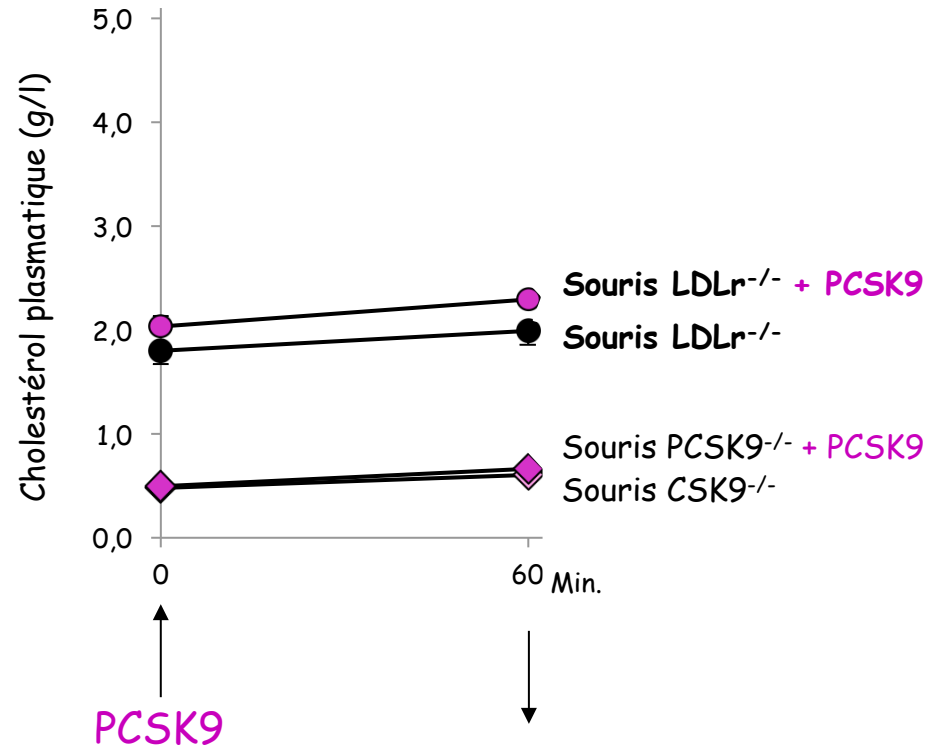
In vivo (³H chol LDL)



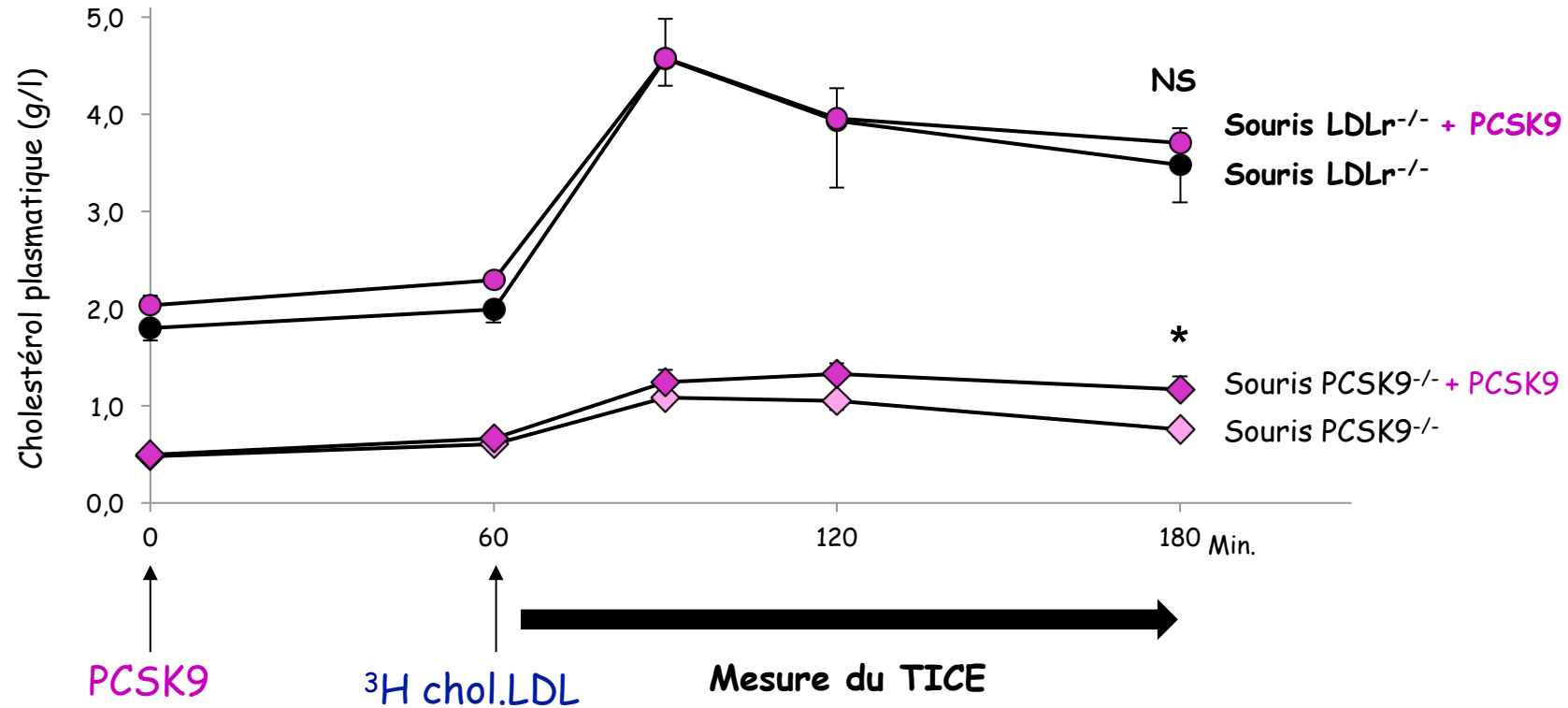
L'injection de protéine recombinante PCSK9



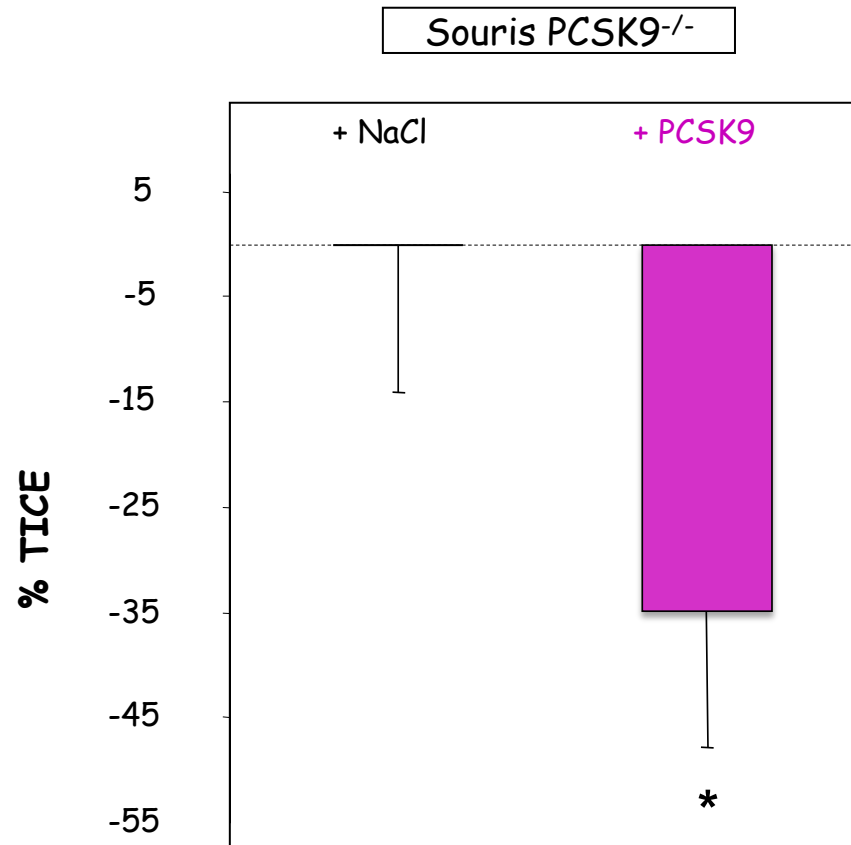
L'injection de protéine recombinante PCSK9 dégrade le LDLr intestinal



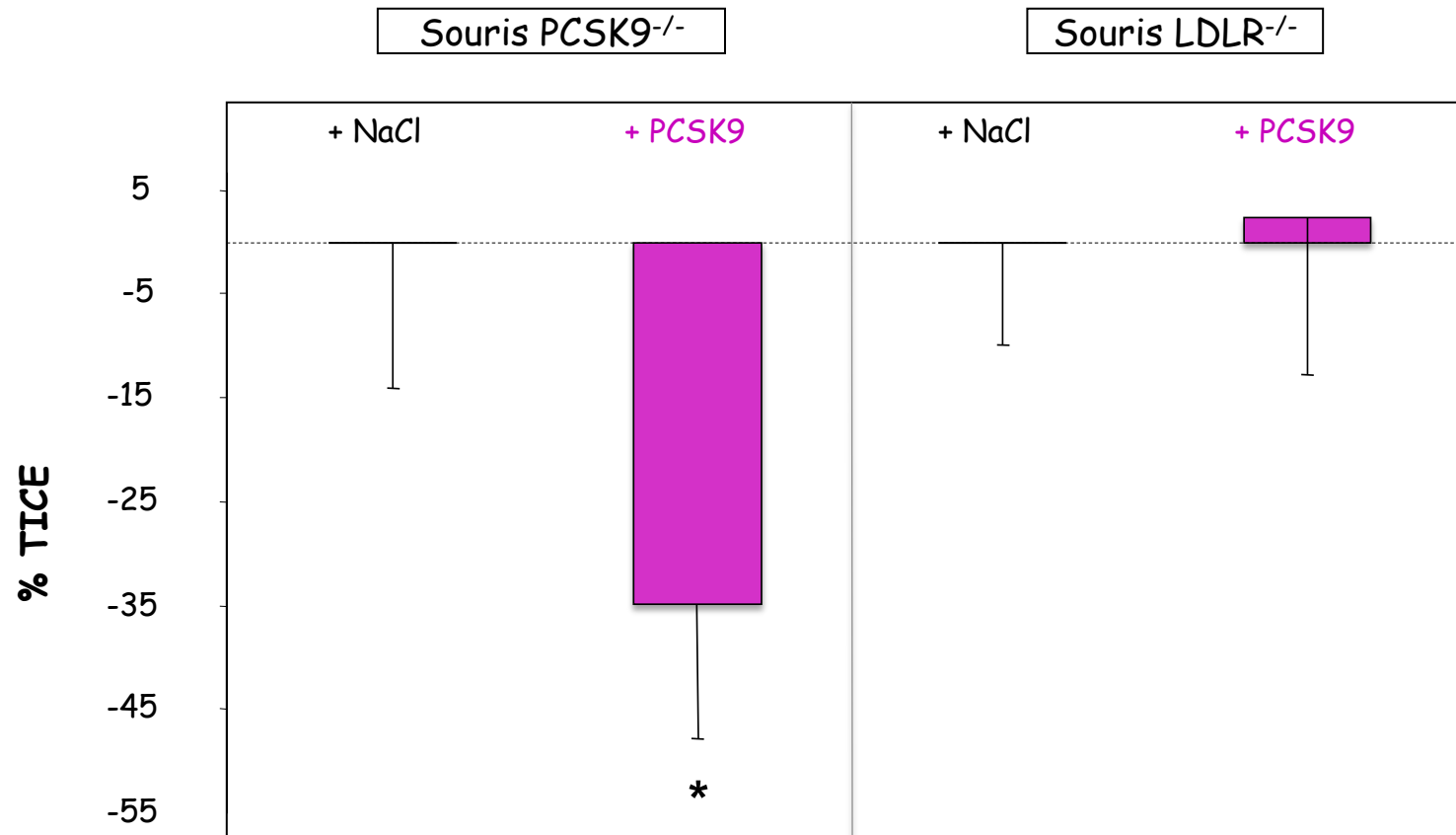
L'injection de protéine recombinante PCSK9 dégrade le LDLr intestinal...



...et réduit le TICE de 35%
chez les souris PCSK9^{-/-}



...et réduit le TICE de 35% chez les souris PCSK9^{-/-} mais pas chez les souris LDLR^{-/-}

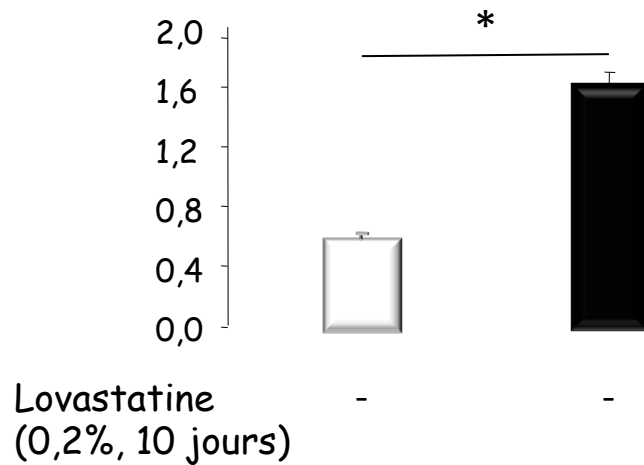


Effet des statines sur le TICE *in vivo*

☐ Souris C57Bl/6 ■ Souris LDLr^{-/-}

In vivo (³H chol LDL)

Cholestérol plasmatique (g/l)

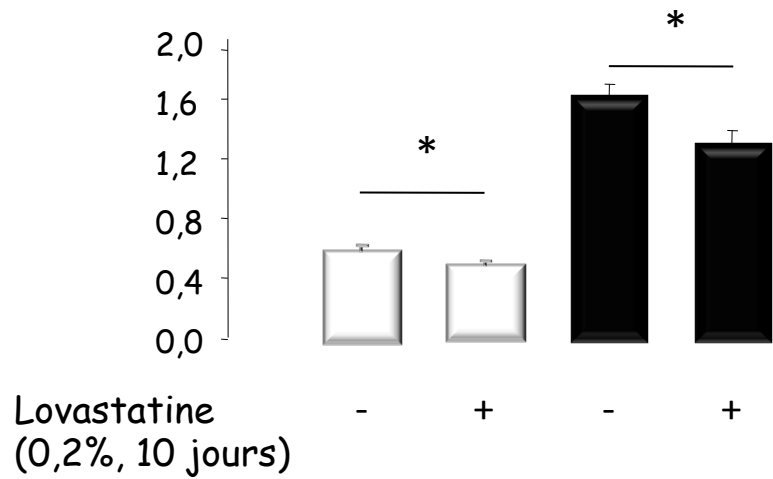


Effet des statines sur le TICE *in vivo*

☐ Souris C57Bl/6 ■ Souris LDLr^{-/-}

In vivo (³H chol LDL)

Cholestérol plasmatique (g/l)

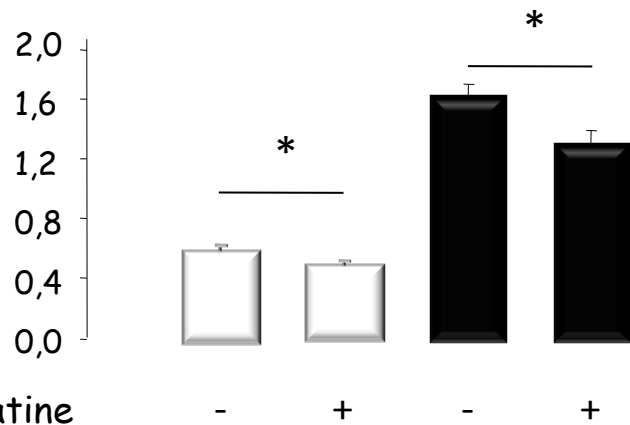


La lovastatine stimule le TICE chez les souris sauvages

☐ Souris C57Bl/6 ■ Souris LDLr^{-/-}

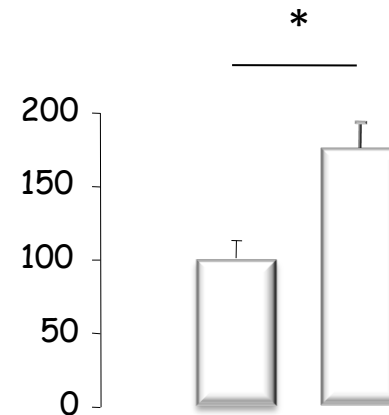
In vivo (³H chol LDL)

Cholestérol plasmatique (g/l)



Lovastatine
(0,2%, 10 jours)

Induction du TICE par la lovastatine
(% relatif au régime standard)



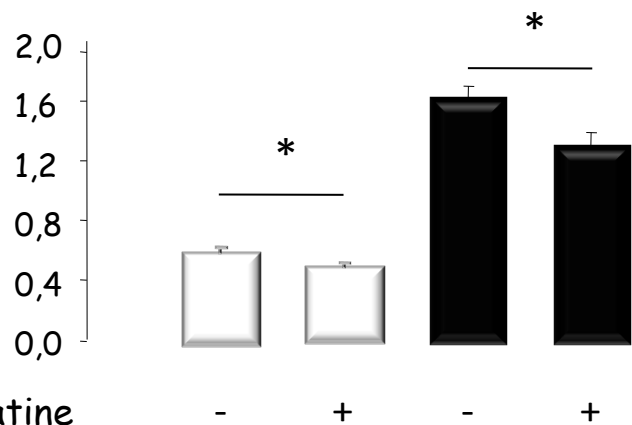
Lovastatine
(0,2%, 10 jours)

La lovastatine stimule le TICE chez les souris sauvages mais pas chez les souris LDLR^{-/-}

☐ Souris C57Bl/6 ■ Souris LDLR^{-/-}

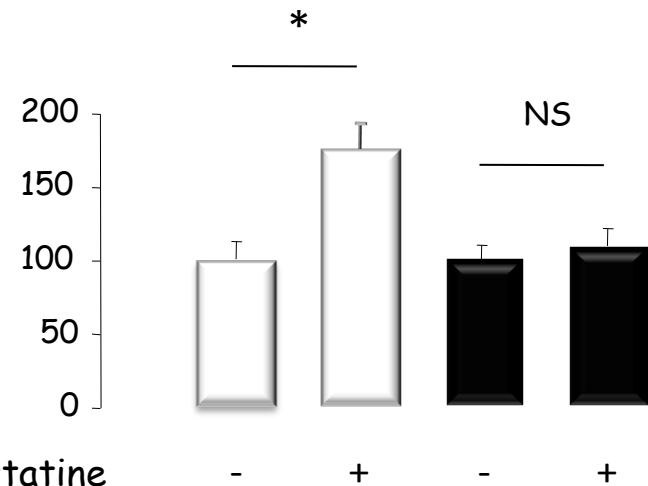
In vivo (³H chol LDL)

Cholestérol plasmatique (g/l)



Lovastatine
(0,2%, 10 jours)

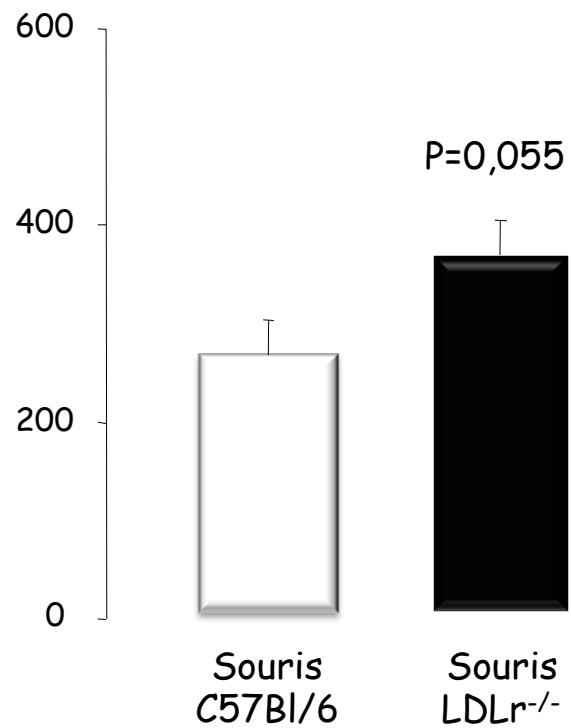
Induction du TICE par la lovastatine
(% relatif au régime standard)



Lovastatine
(0,2%, 10 jours)

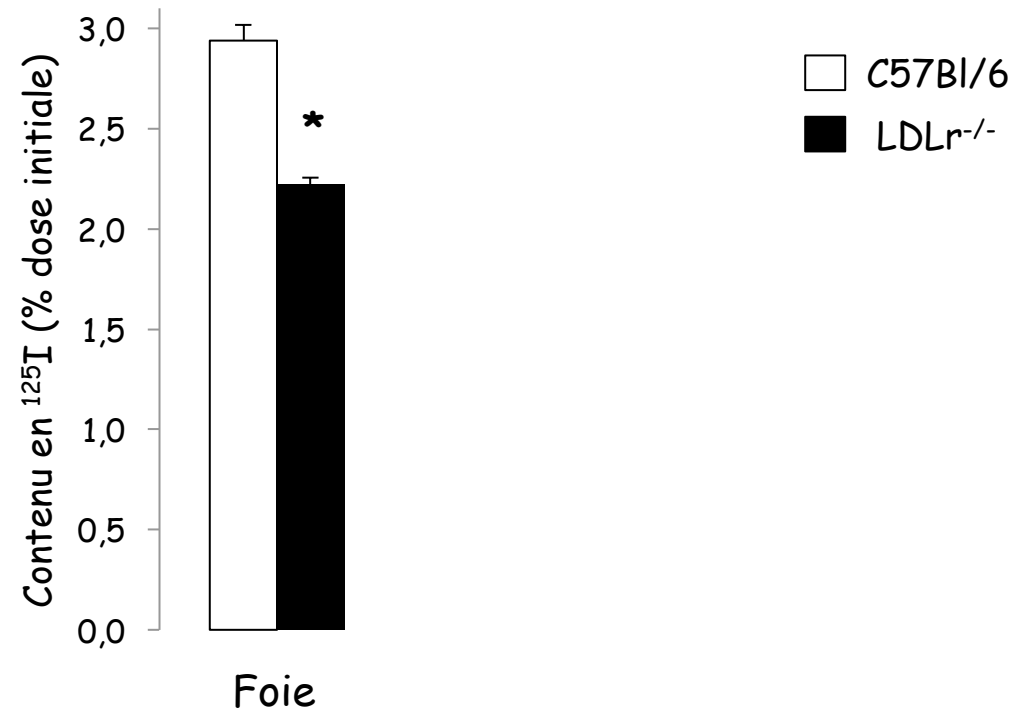
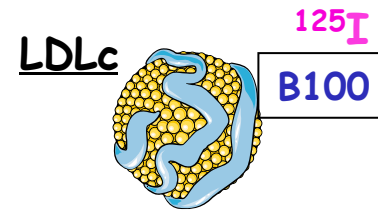
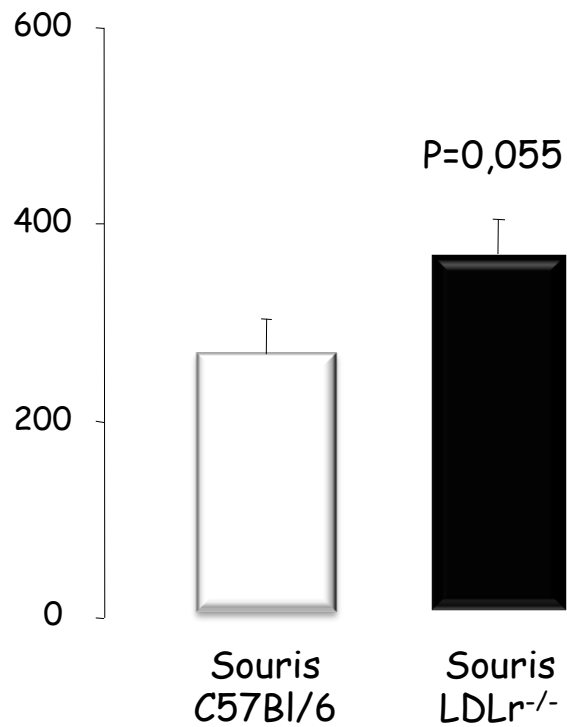
Le TICE est augmenté chez les souris LDLr^{-/-}

In vivo (³H chol LDL)
TICE (CPM/min/100g poids)



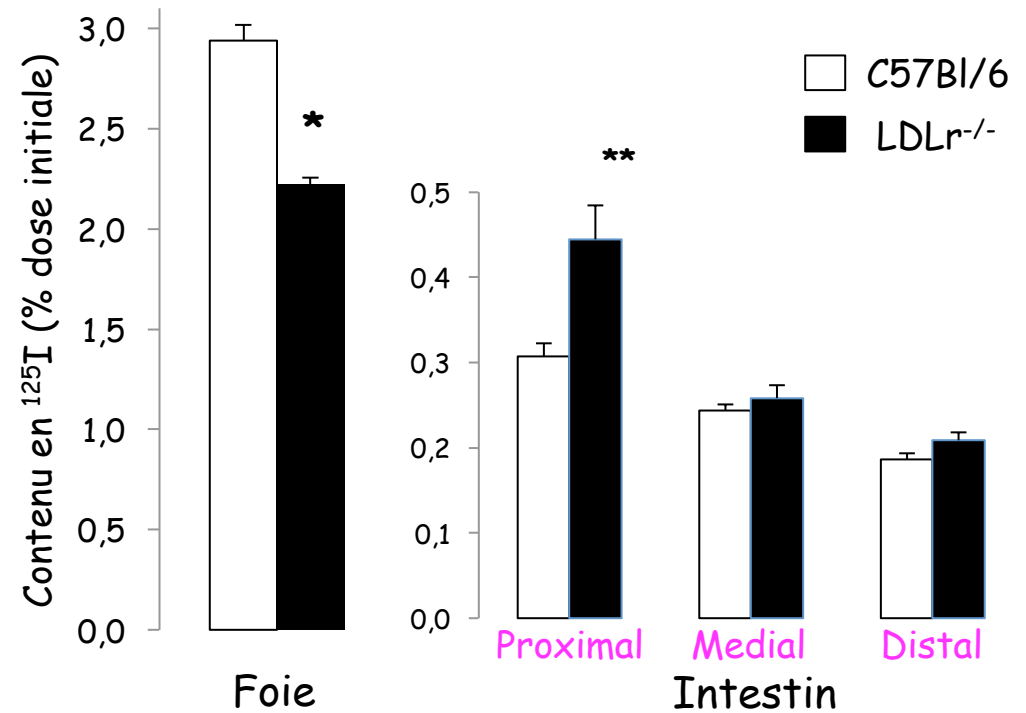
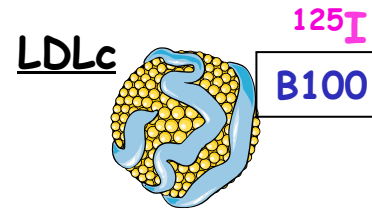
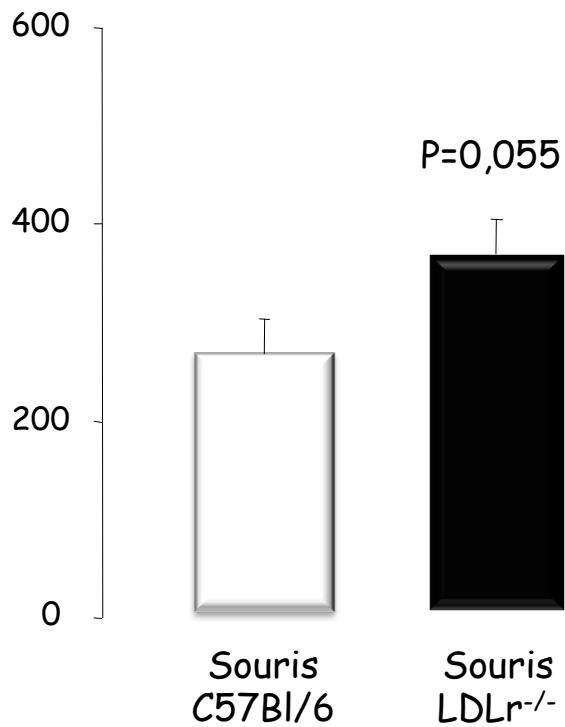
Le TICE est augmenté chez les souris LDLr^{-/-}

In vivo (³H chol LDL)
TICE (CPM/min/100g poids)

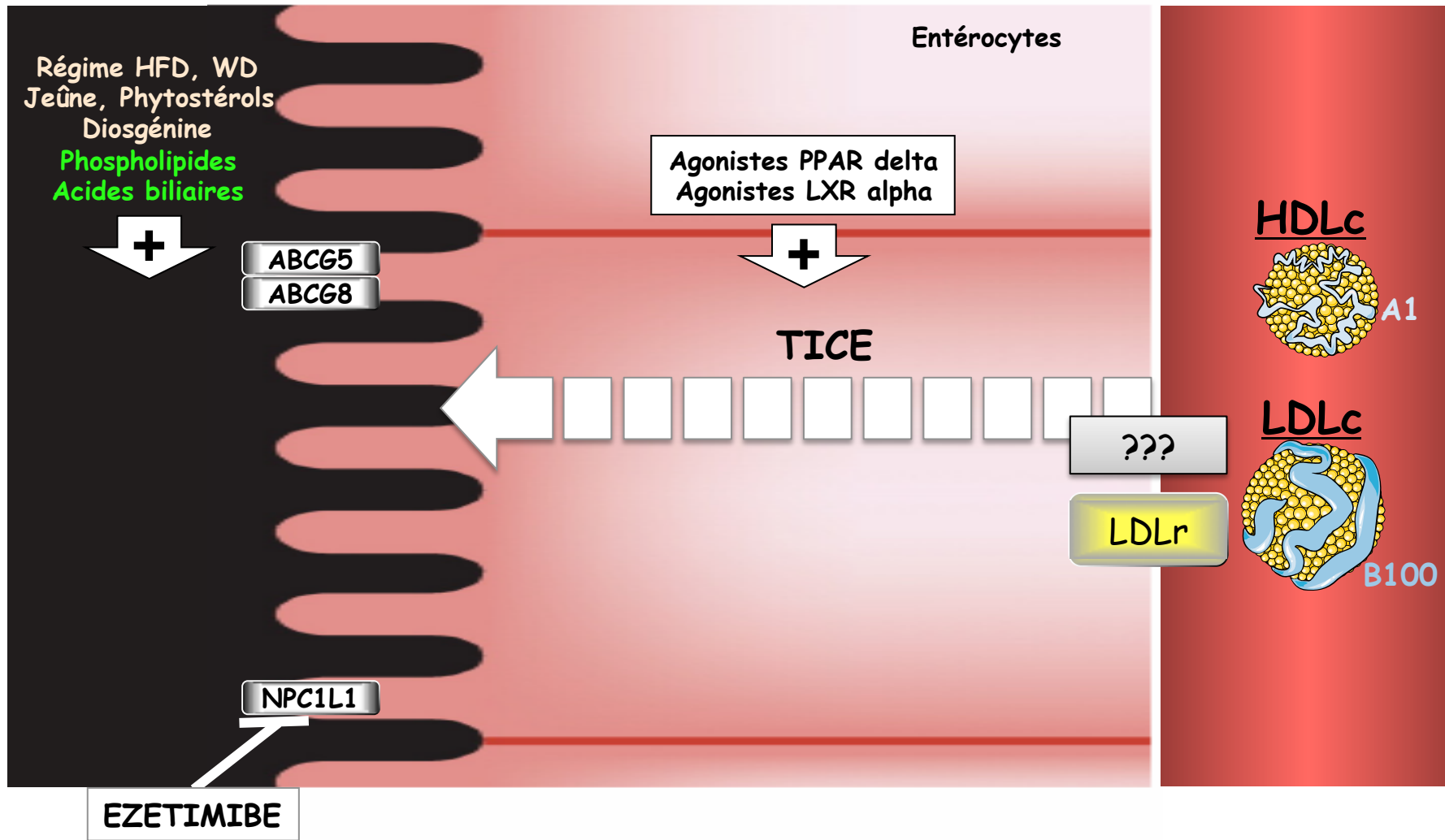


L'internalisation des LDL est significativement induite au niveau de l'intestin proximal

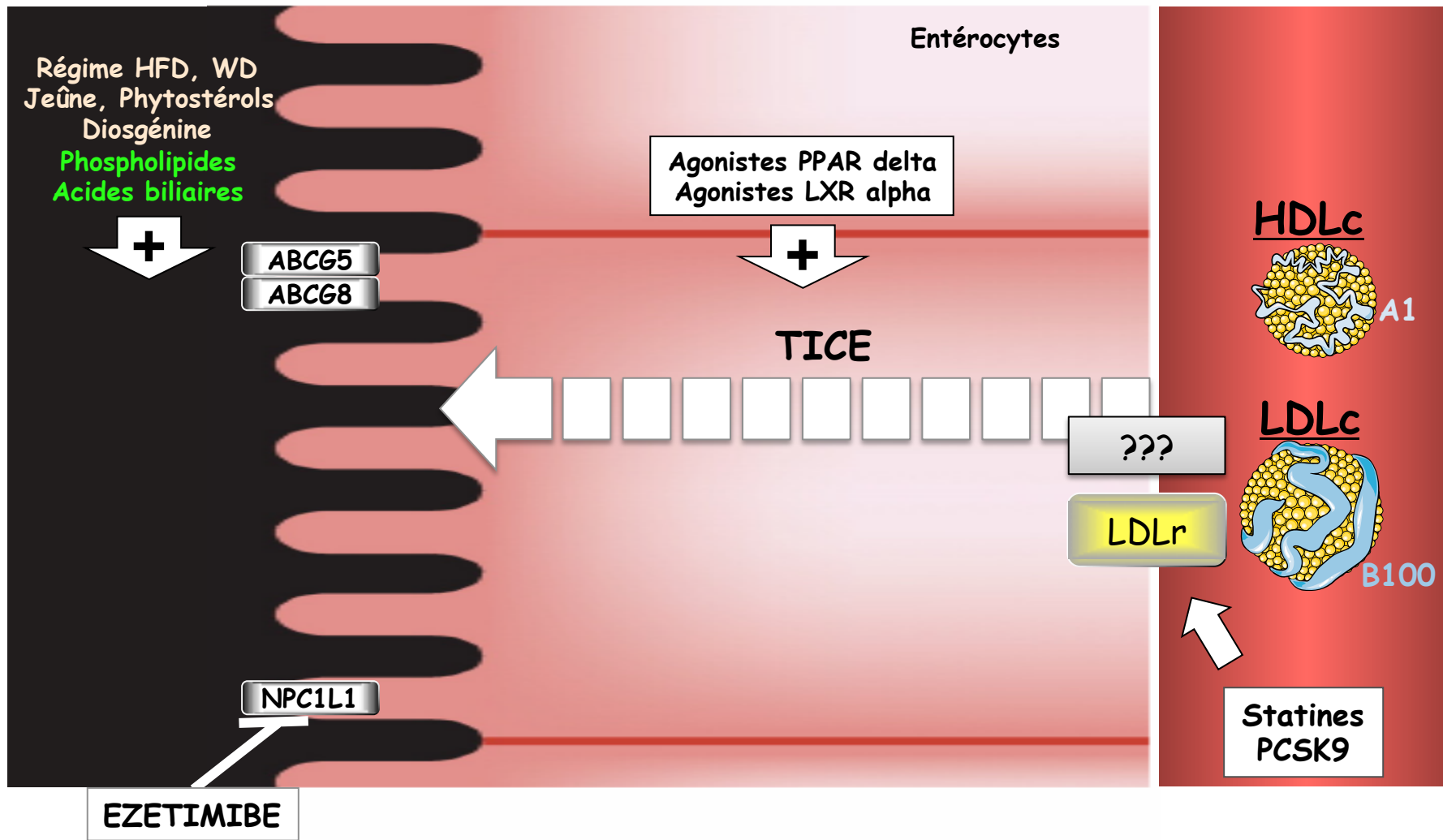
In vivo (^3H chol LDL)
TICE (CPM/min/100g poids)



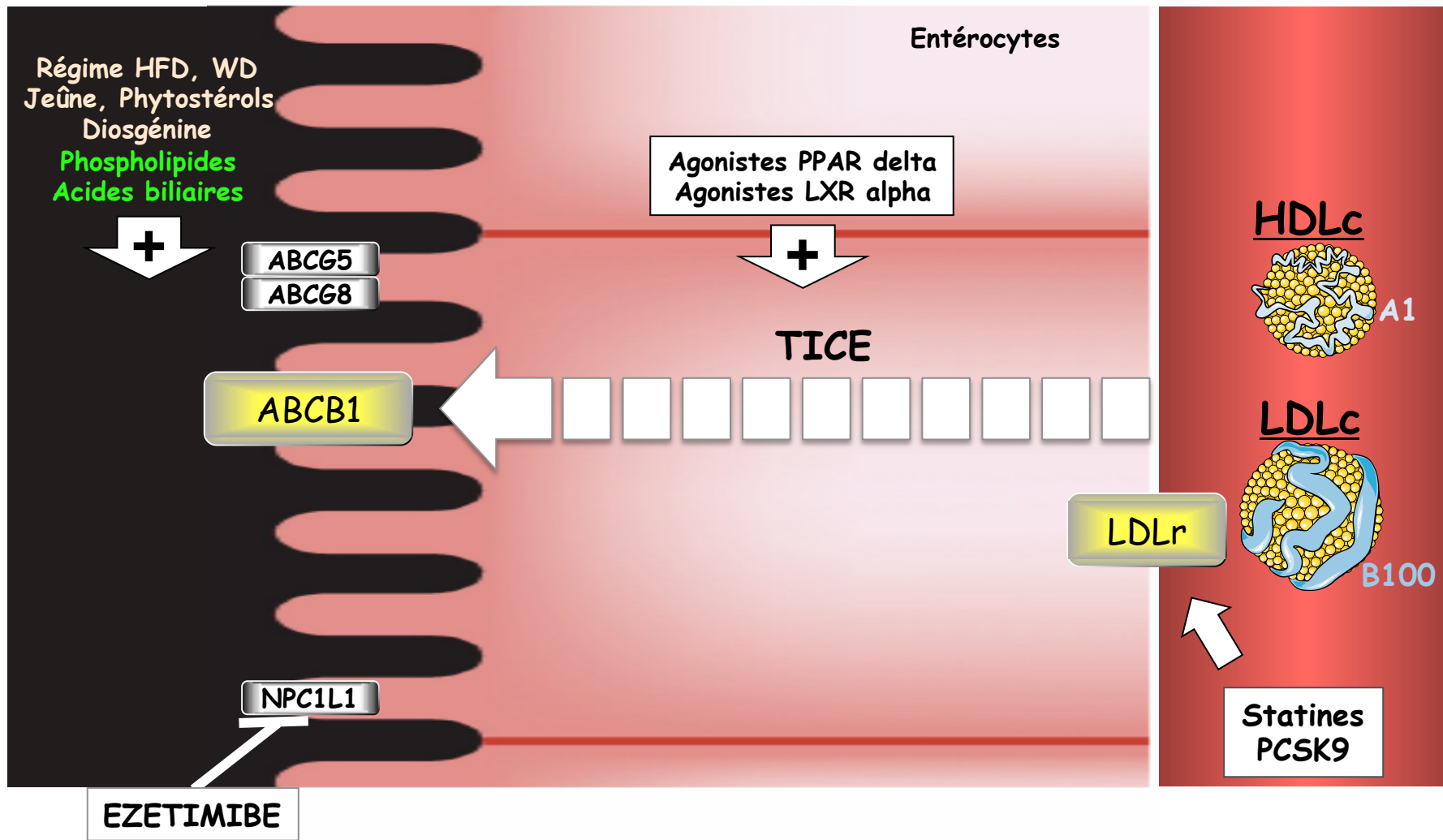
Connaissances actuelles sur le TICE



Connaissances actuelles sur le TICE

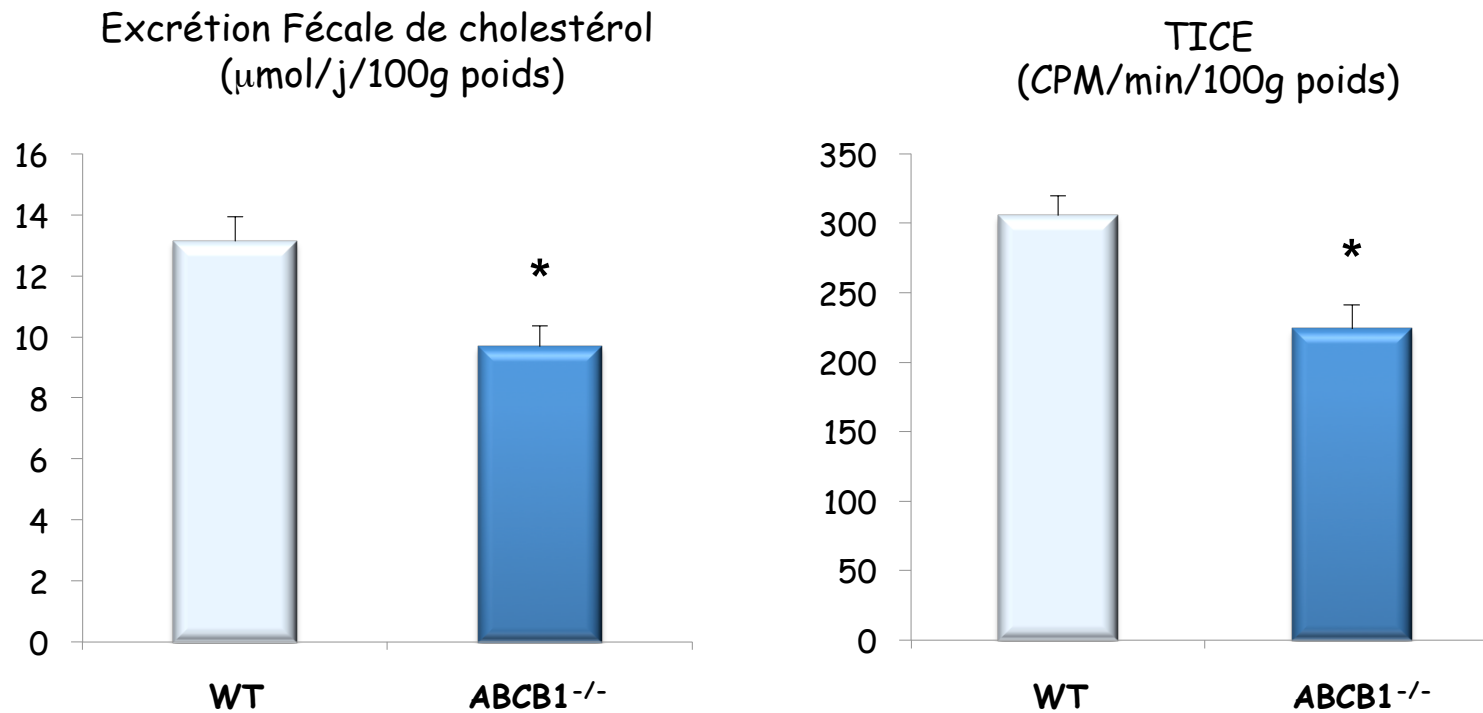


Connaissances actuelles sur le TICE

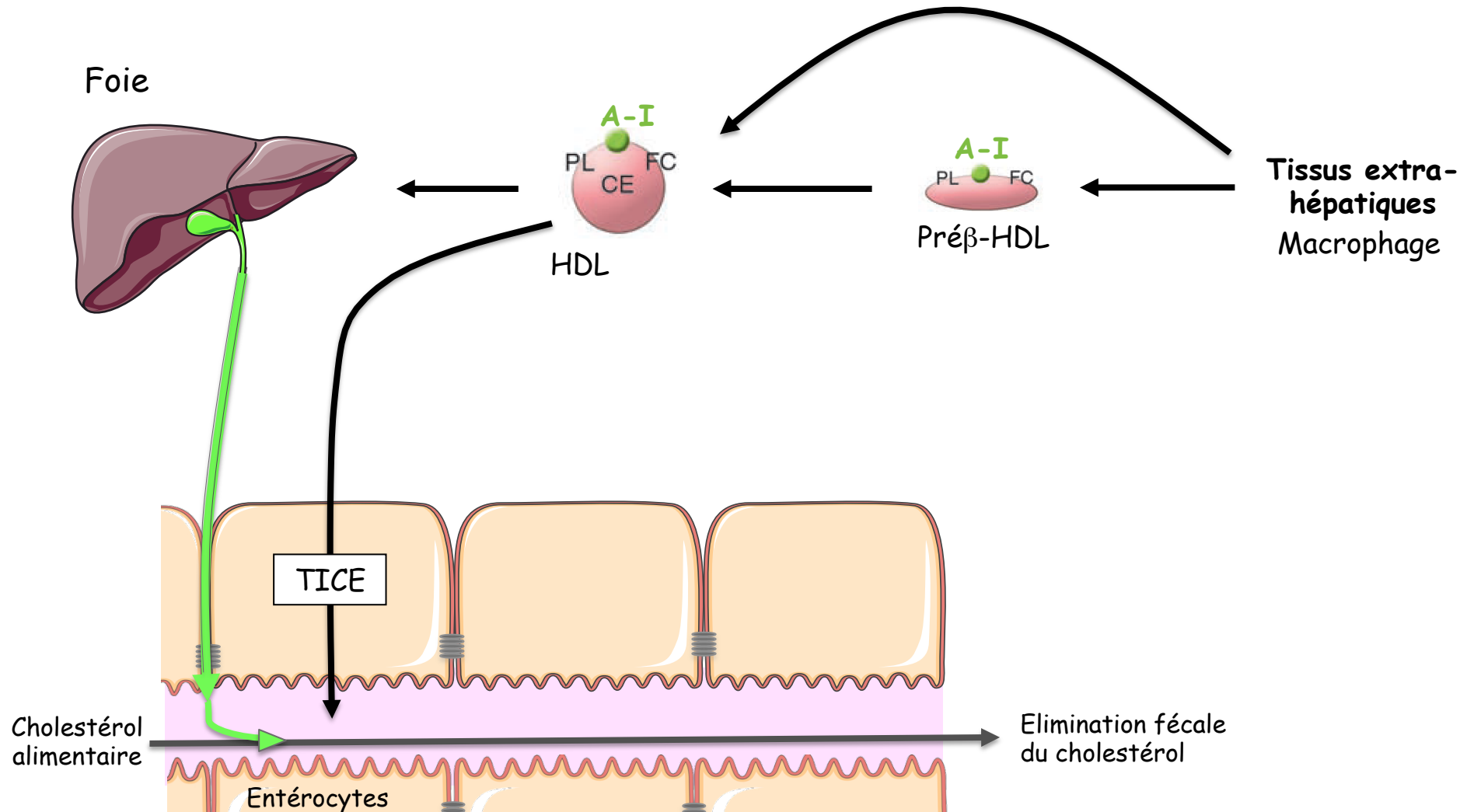


Le TICE est réduit de 20% chez les souris ABCB1^{-/-}

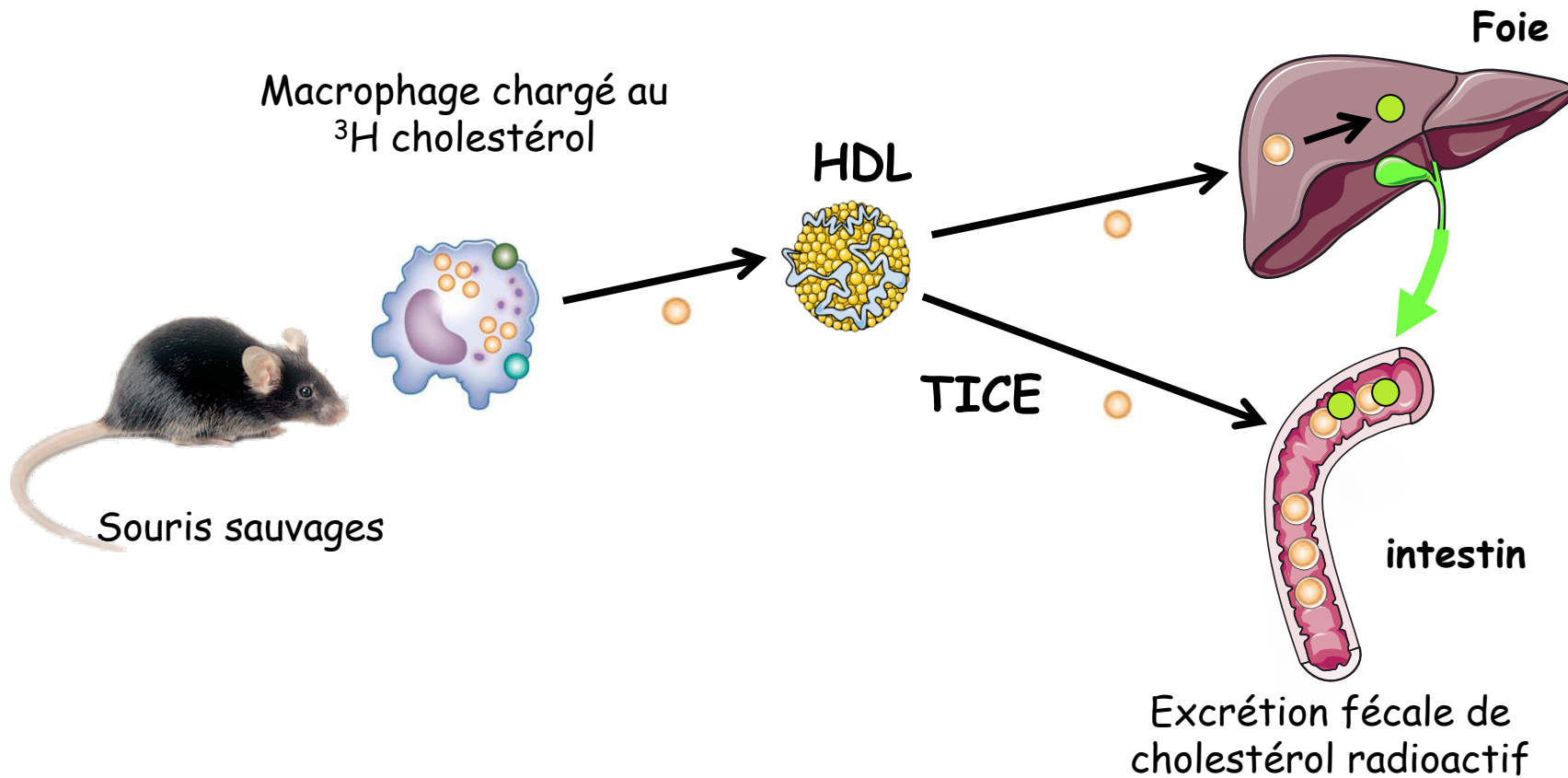
In vivo
³H cholestérol



Le TICE est t'il impliqué dans le transport inverse du cholestérol ?

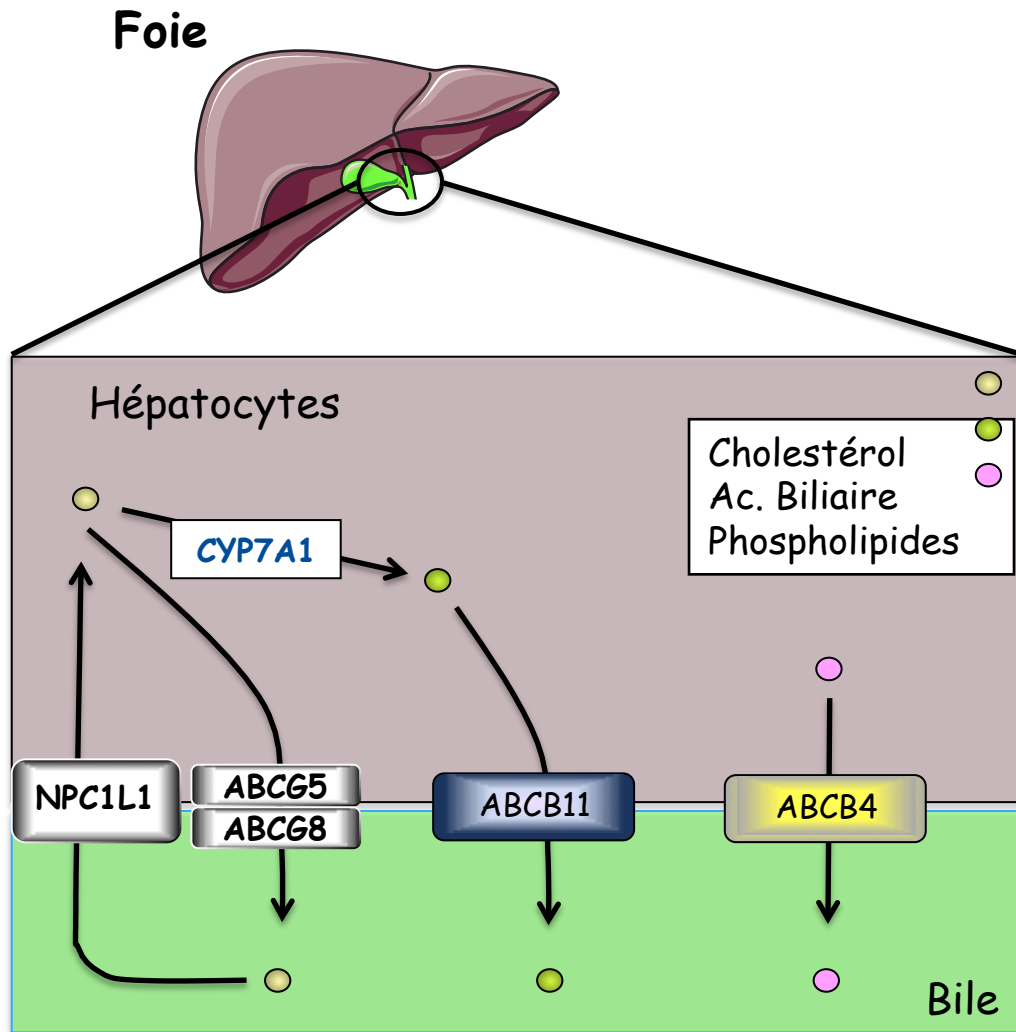


Mesure du transport inverse de cholestérol macrophagique chez des souris sauvages

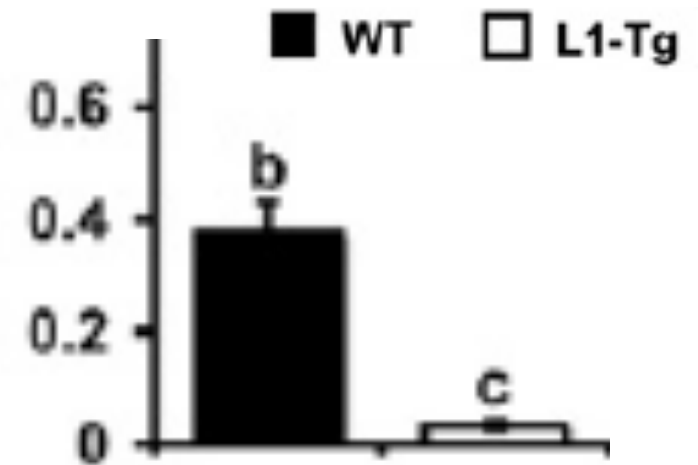


- ^3H cholestérol
- ^3H acides biliaires

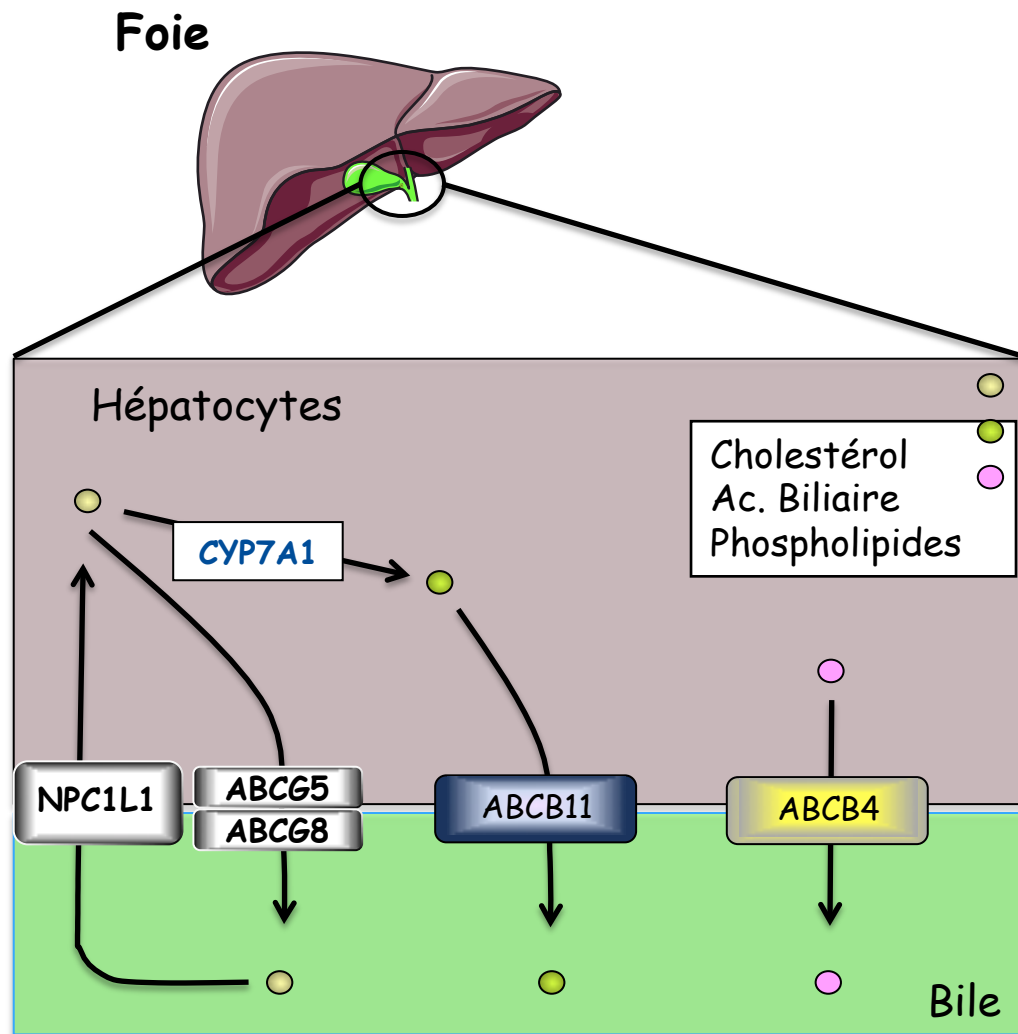
Mesure du transport inverse du cholestérol chez des souris qui surexpriment NPC1L1 dans le foie



Excrétion biliaire de ^3H cholestérol
(% dose injectée / 100 μl)

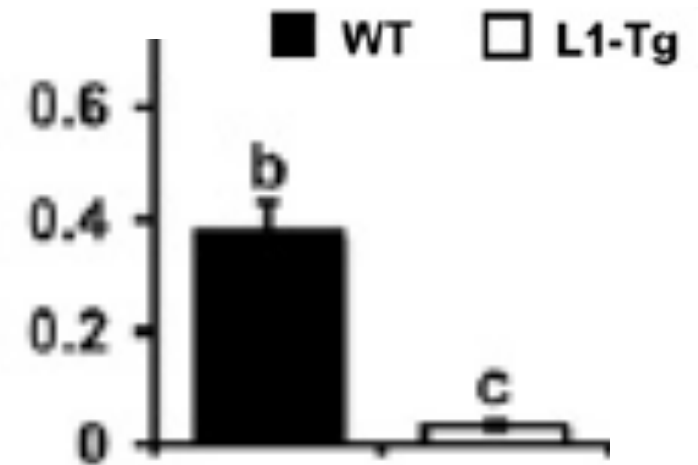


En dépit d'un défaut majeur d'excrétion biliaire, l'excrétion fécale est inchangée



Temel R.E. et al - Cell metabolism 2010

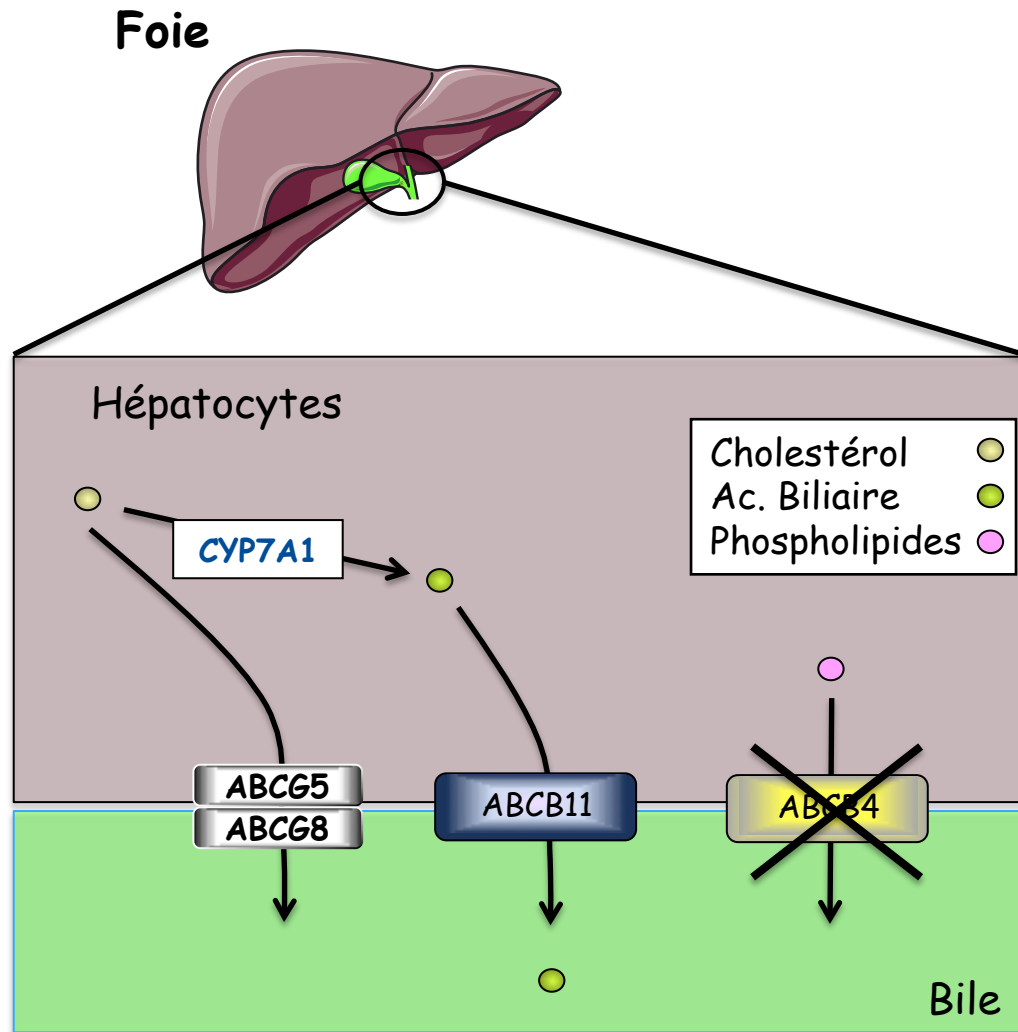
Excrétion biliaire de ^3H cholestérol
(% dose injecté / 100 μl)



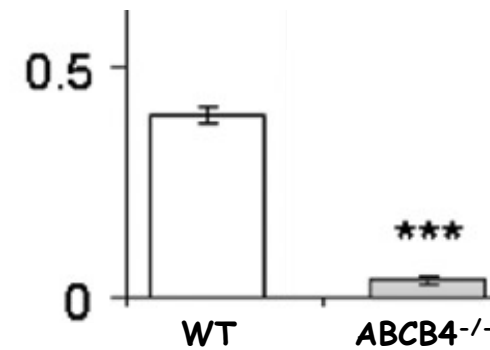
Excrétion fécale de ^3H cholestérol
(% dose injectée)



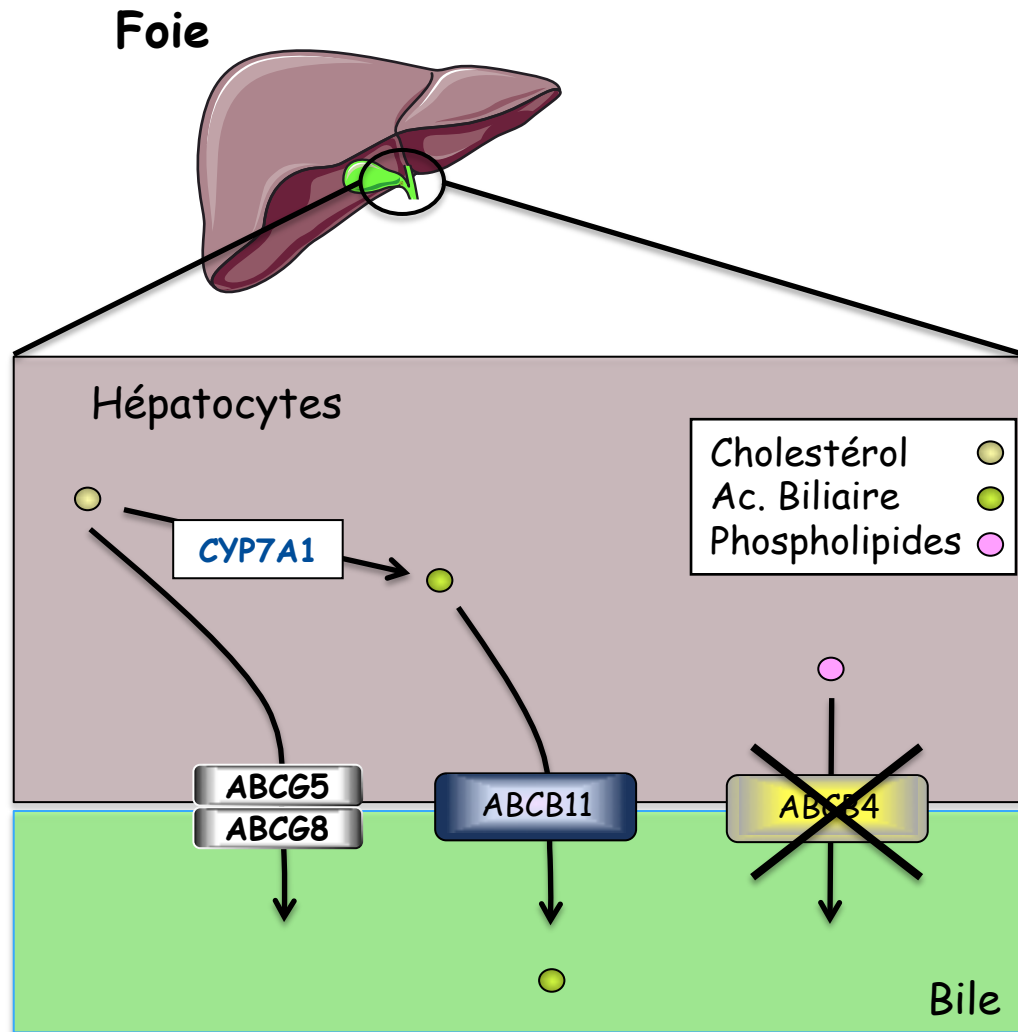
Mesure du transport inverse du cholestérol chez des souris *ABCB4*^{-/-}



Excrétion biliaire de ³H cholestérol
(% dose injectée / 100μl)

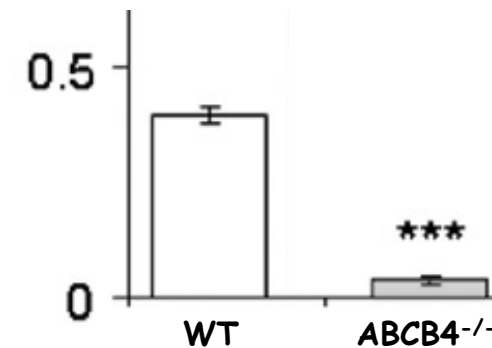


La réduction de l'excrétion biliaire de cholestérol macrophagique altère fortement son excrétion fécale

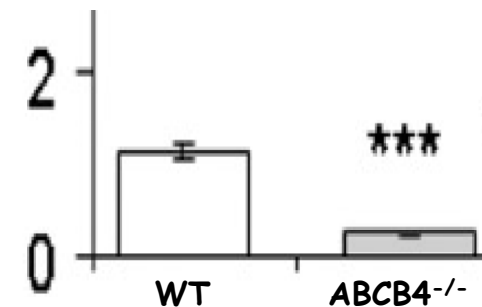


Nijstad N et al - Gastroenterology 2011

Excrétion biliaire de ^3H cholestérol
(% dose injectée/ 100 μl)



Excrétion fécale de ^3H cholestérol
(% dose injectée)



Biliary Sterol Secretion Is Not Required for Macrophage Reverse Cholesterol Transport

Ryan E. Temel,¹ Janet K. Sawyer,¹ Liqing Yu,¹ Caleb Lord,¹ Chiara Degirolamo,¹ Allison McDaniel,¹ Stephanie Marshall,¹ Nanping Wang,² Ramesh Shah,¹ Lawrence L. Rudel,¹ and J. Mark Brown^{1,*}

[Temel R.E. et al - Cell metabolism 2010](#)

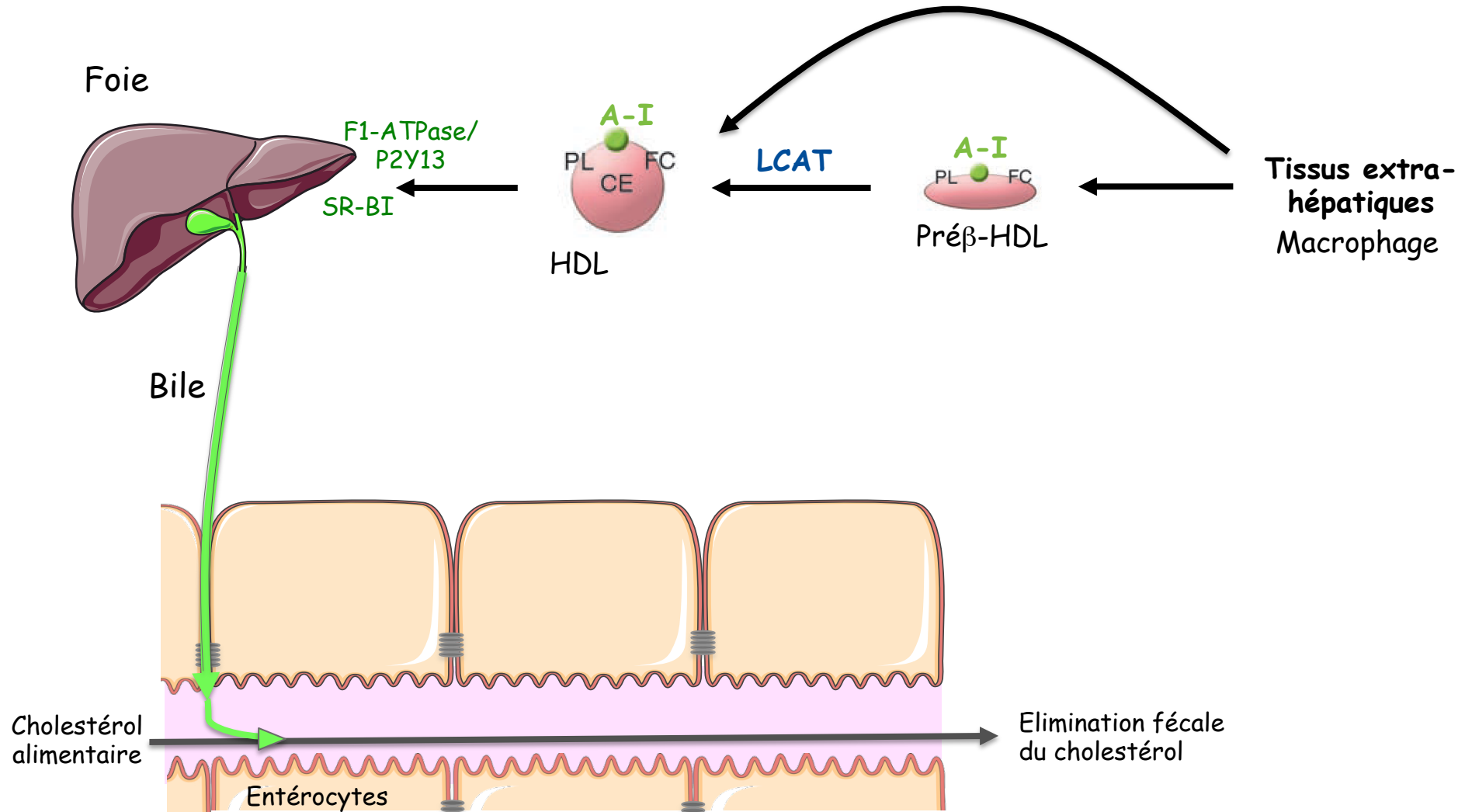
GASTROENTEROLOGY 2011;140:1043-1051

Biliary Sterol Secretion Is Required for Functional In Vivo Reverse Cholesterol Transport in Mice

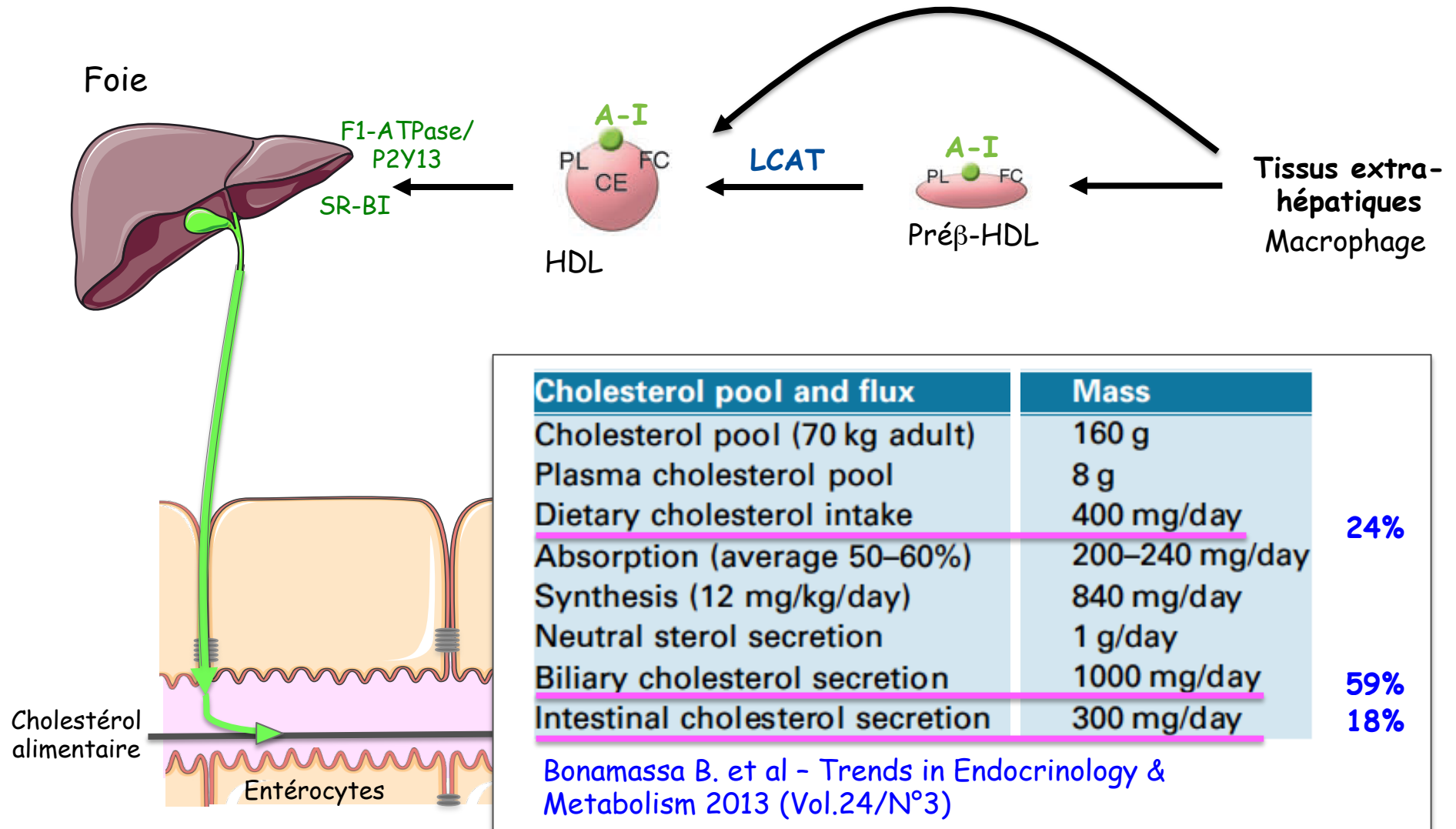
NIELS NIJSTAD,* THOMAS GAUTIER,* FRANÇOIS BRIAND,[‡] DANIEL J. RADER,[‡] and UWE J. F. TIETGE*

[Nijstad N et al - Gastroenterology 2011](#)

Rôle de l'absorption intestinale dans le transport inverse ?



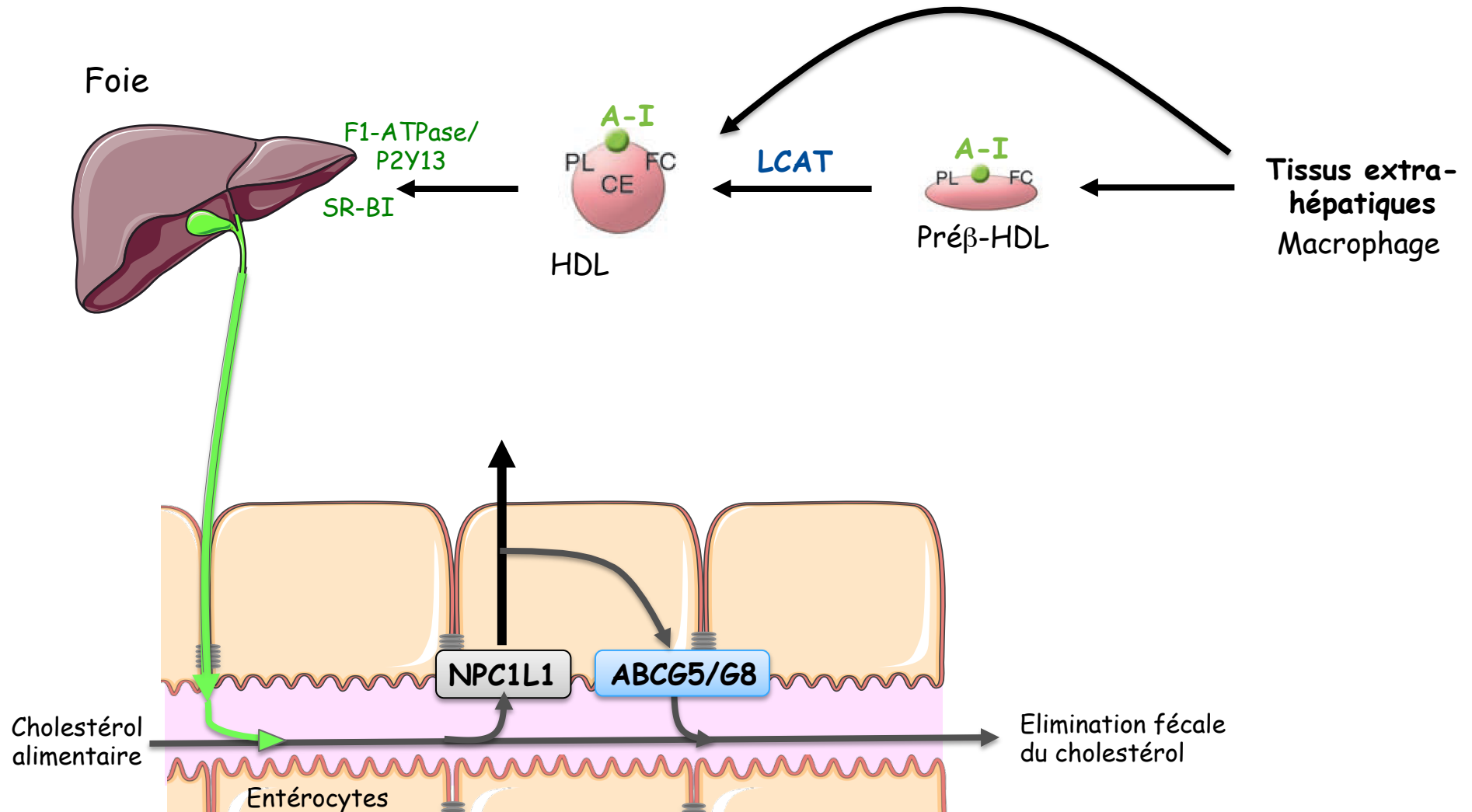
Rôle de l'absorption intestinale dans le transport inverse ?



Cholesterol pool and flux	Mass	
Cholesterol pool (70 kg adult)	160 g	
Plasma cholesterol pool	8 g	
Dietary cholesterol intake	400 mg/day	24%
Absorption (average 50–60%)	200–240 mg/day	
Synthesis (12 mg/kg/day)	840 mg/day	
Neutral sterol secretion	1 g/day	
Biliary cholesterol secretion	1000 mg/day	59%
Intestinal cholesterol secretion	300 mg/day	18%

Bonamassa B. et al - Trends in Endocrinology & Metabolism 2013 (Vol.24/N°3)

Rôle de l'absorption intestinale dans le transport inverse ?

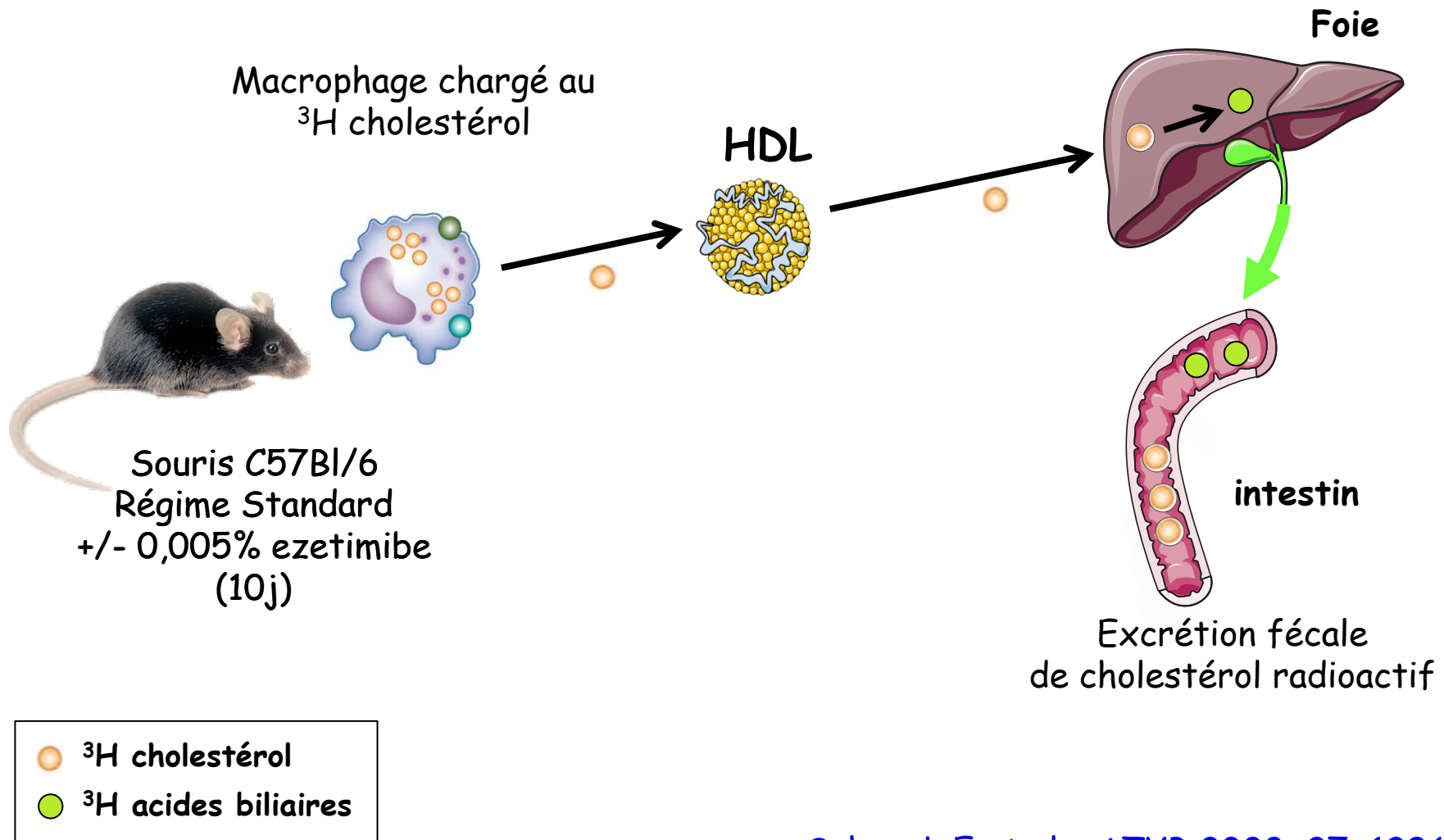


Brief Report

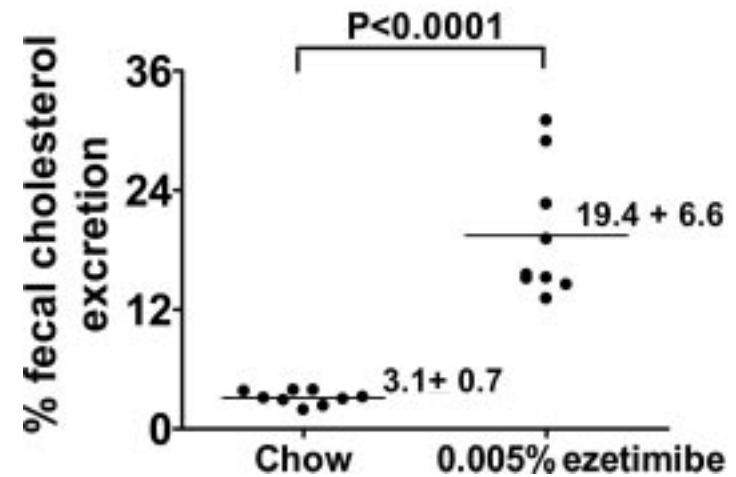
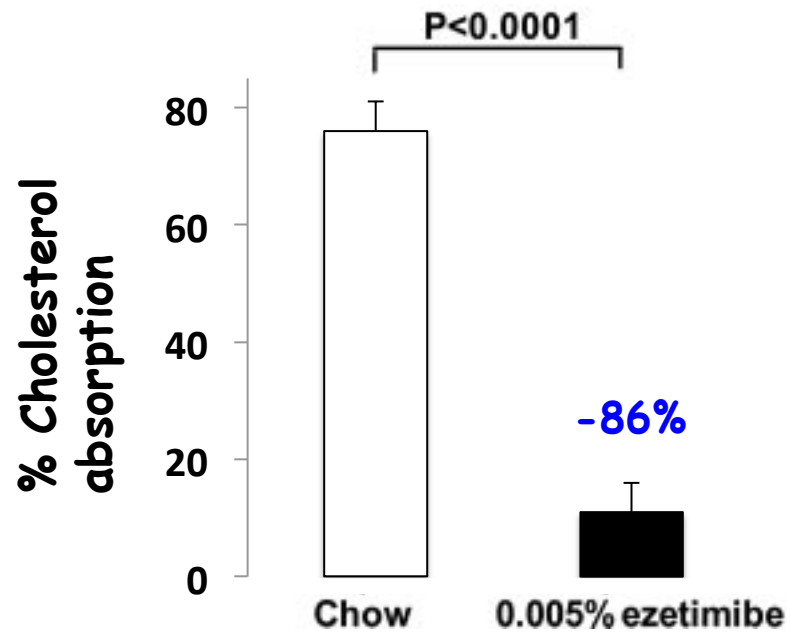
Cholesterol Absorption From the Intestine Is a Major Determinant of Reverse Cholesterol Transport From Peripheral Tissue Macrophages

Ephraim Sehayek, Stanley L. Hazen

Méthode de mesure du transport inverse de cholestérol macrophagique



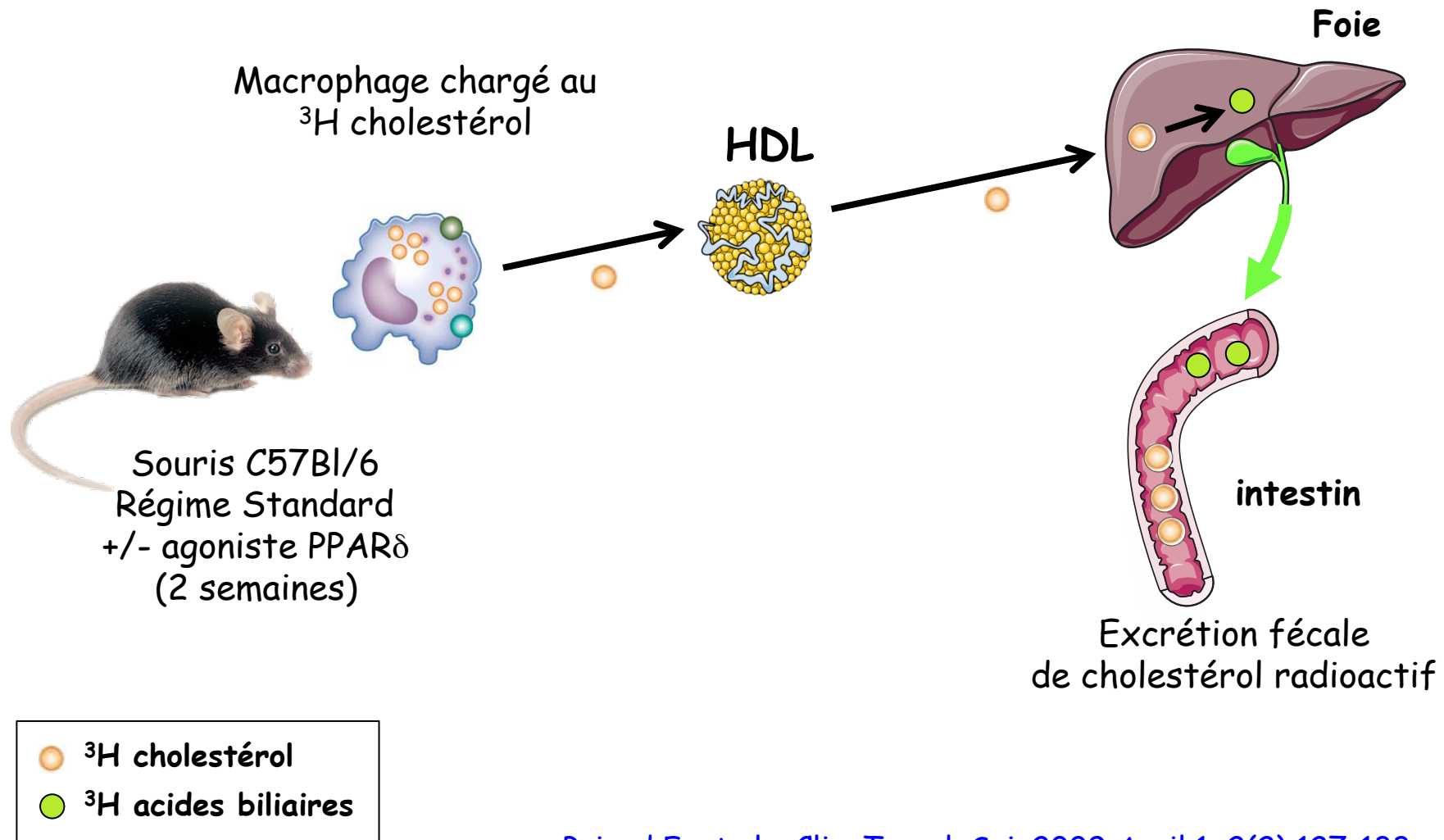
L'ezetimibe inhibe l'absorption intestinale de cholestérol et stimule le transport inverse de cholestérol macrophagique



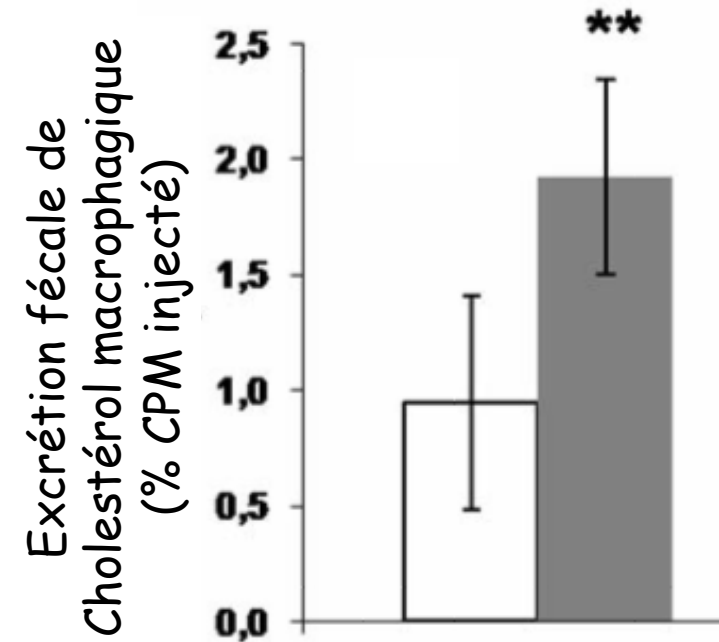
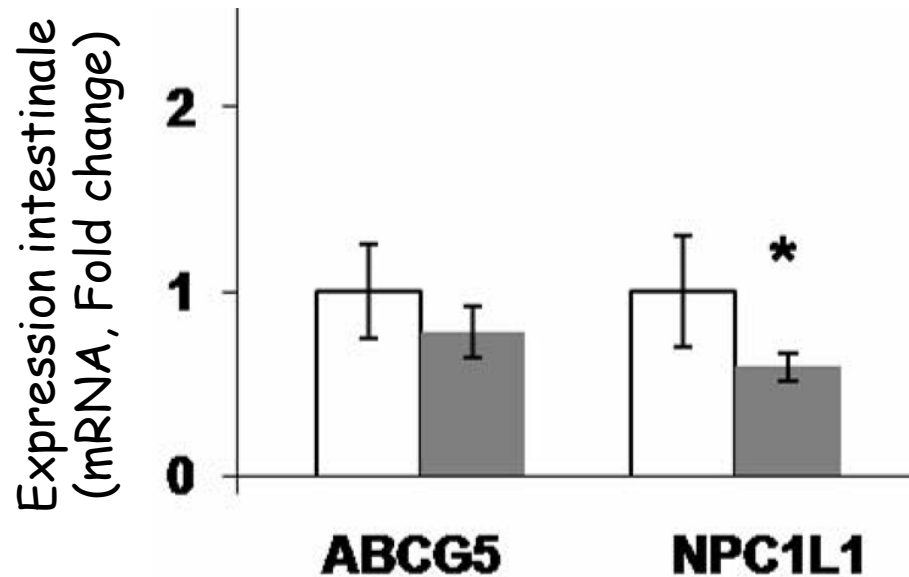
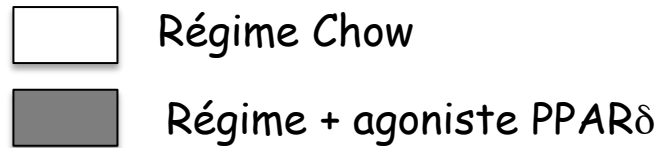
Both the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) delta agonist, GW0742, and ezetimibe promote reverse cholesterol transport in mice by reducing intestinal re-absorption of HDL-derived cholesterol

François Briand, Ph.D.^{*}, Snehal U Naik, Ph.D.^{*}, Ilia Fuki, Ph.D.^{*}, John S Millar, Ph.D.^{*}, Colin Macphee, Ph.D.[‡], Max Walker, Ph.D.[‡], Jeffrey Billheimer, Ph.D.^{*}, George Rothblat, Ph.D.[†], and Daniel J Rader, MD.^{*,,**,1}**

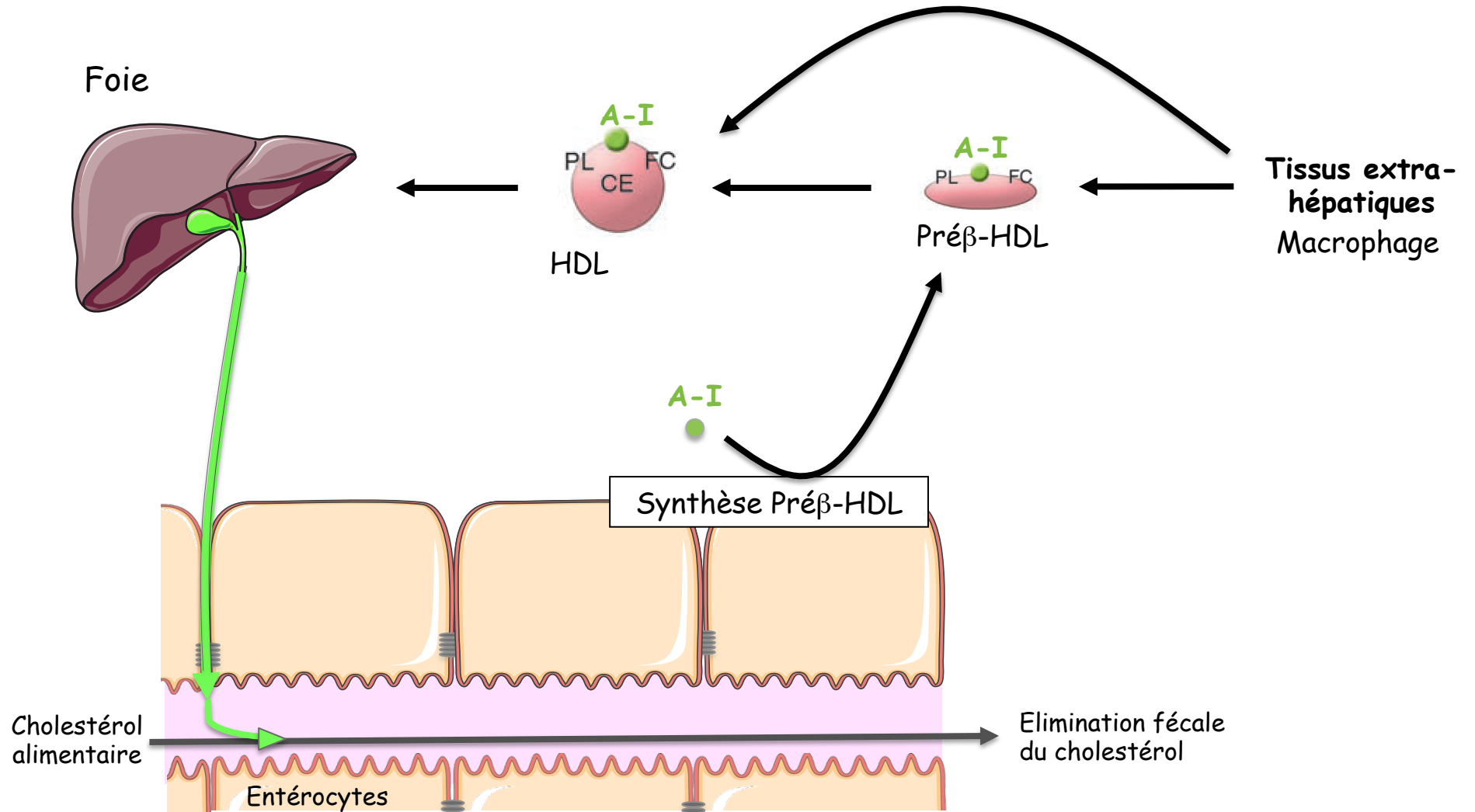
Effet de l'activation de PPAR delta sur le transport inverse de cholestérol macrophagique



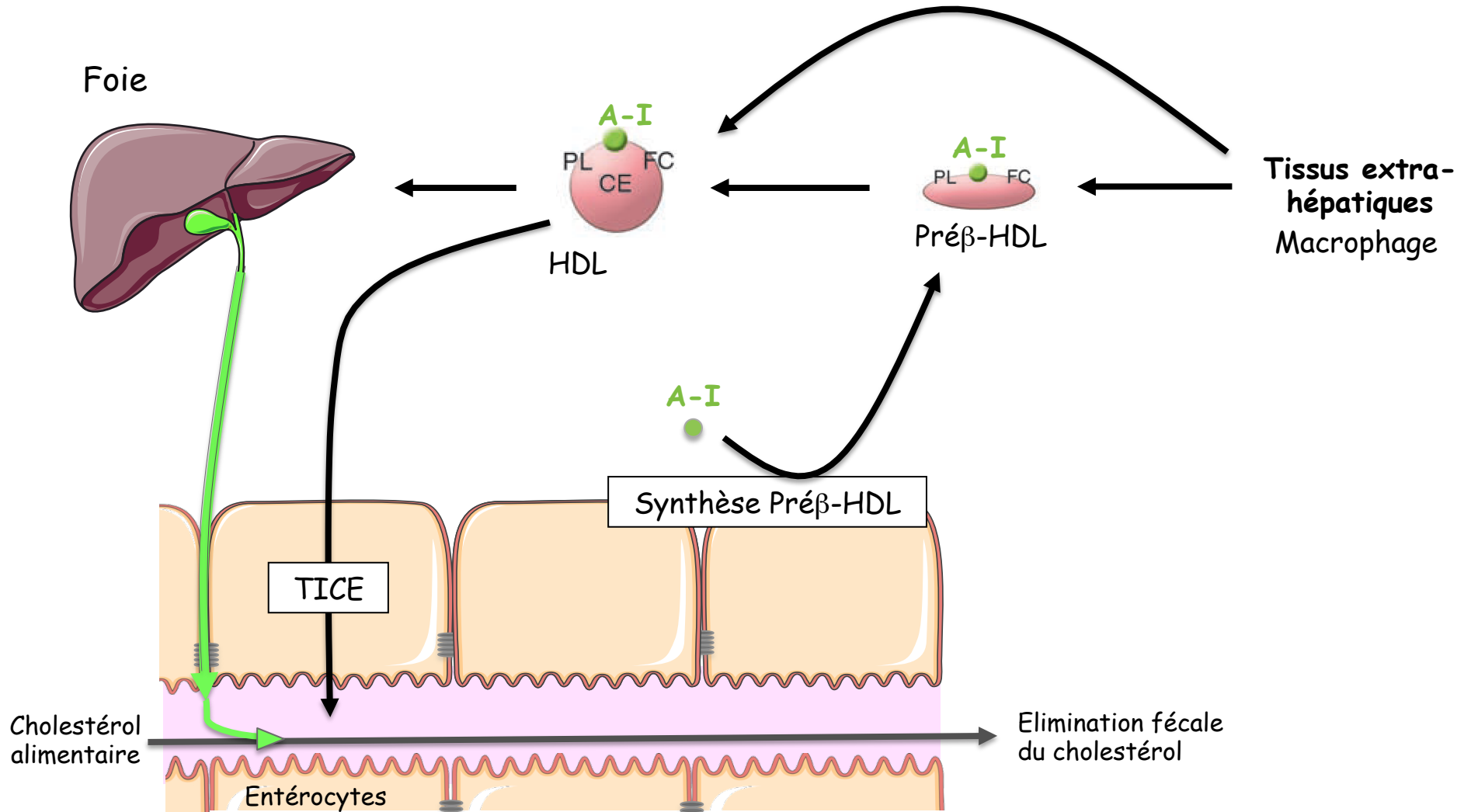
PPAR δ réduit l'expression de NPC1L1 et stimule le transport inverse de cholestérol macrophagique



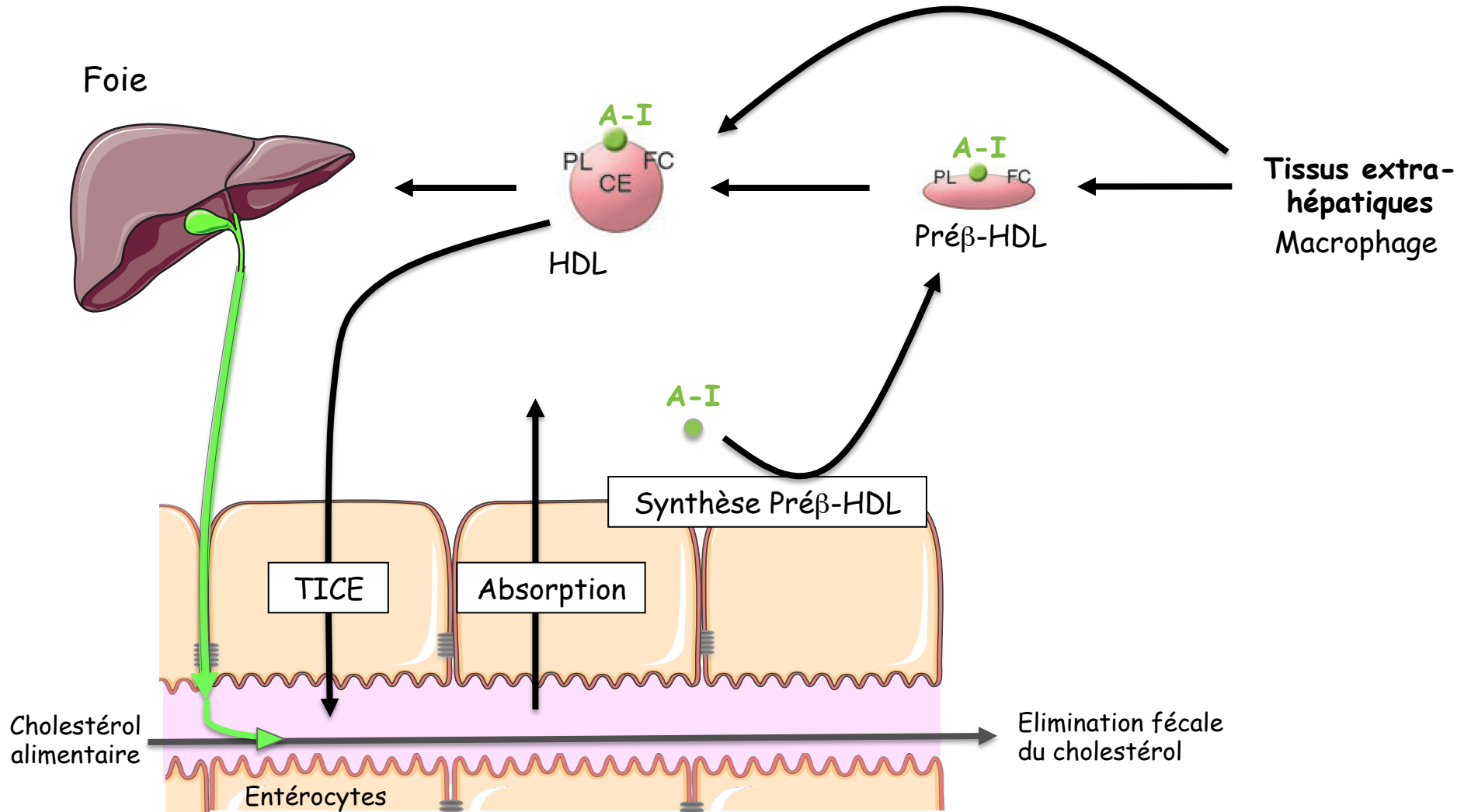
Conclusion



Conclusion



Conclusion



Merci de votre attention

INSERM U1087 (5)
Philippe Costet

Dép^t d'Endocrinologie
et de chirurgie viscérale,
CHU de Nantes, France
Eric Letessier

INSERM UMR 1048,
Toulouse, France
Xavier Collet

UMR 1331, TOXALIM,
INRA
Toulouse, France
Anne Iespine



Sponsors

Fondation génavie, NSFA, AOI CHU de Nantes,
SFN/ Kraft foods LU, Région Pays de la Loire

Ezetimibe Inhibits Hepatic Niemann-Pick C1-Like 1 to Facilitate Macrophage Reverse Cholesterol Transport in Mice

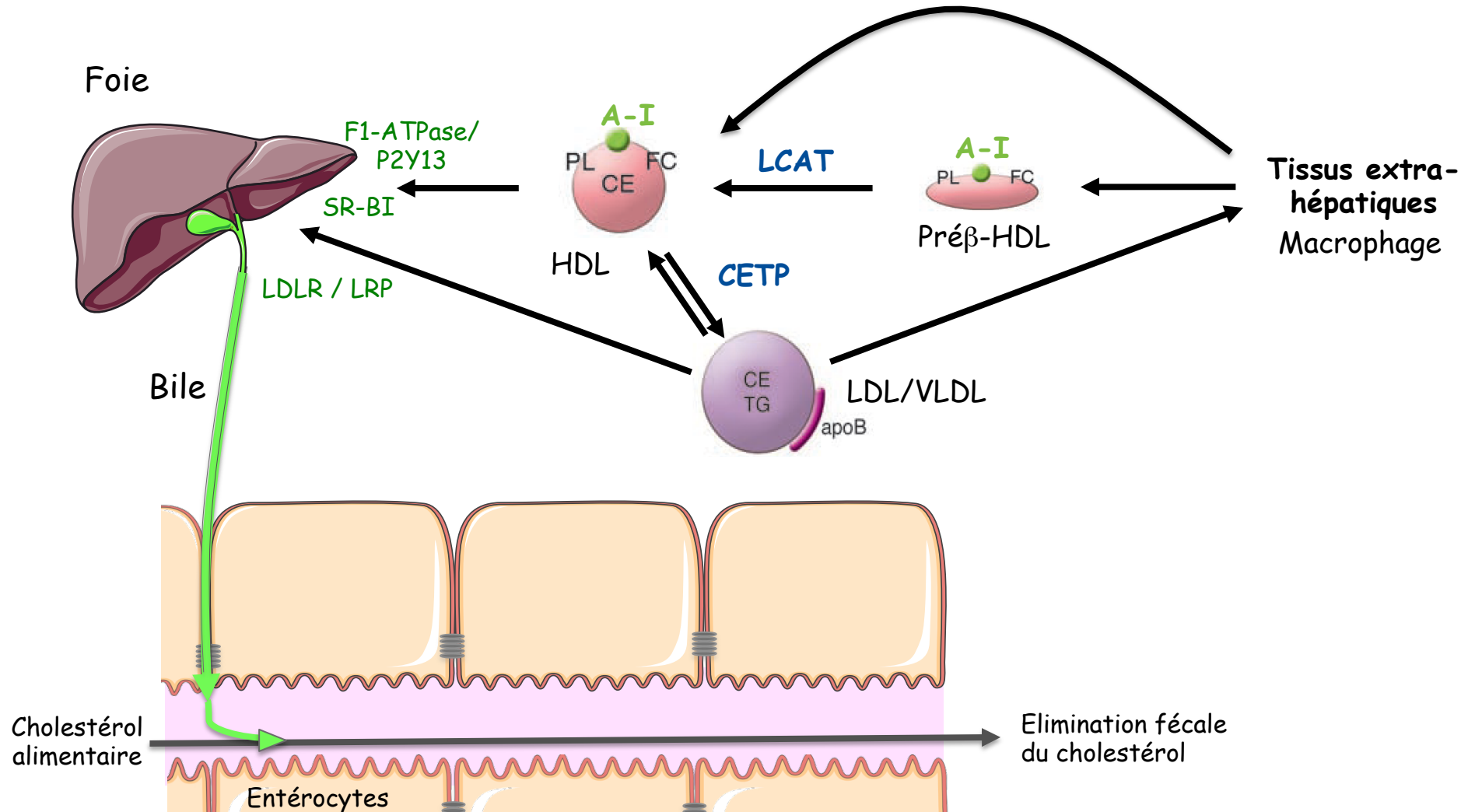
Ping Xie, Lin Jia, Yinyan Ma, Juanjuan Ou, Hongming Miao, Nanping Wang, Feng Guo, Amirfarbod Yazdanyar, Xian-Cheng Jiang, Liqing Yu

Objective—Controversies have arisen from recent mouse studies about the essential role of biliary sterol secretion in reverse cholesterol transport (RCT). The objective of this study was to examine the role of biliary cholesterol secretion in modulating macrophage RCT in Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) liver only (L1^{LivOnly}) mice, an animal model that is defective in both biliary sterol secretion and intestinal sterol absorption, and determine whether NPC1L1 inhibitor ezetimibe facilitates macrophage RCT by inhibiting hepatic NPC1L1.

Approach and Results—L1^{LivOnly} mice were generated by crossing NPC1L1 knockout (L1-KO) mice with transgenic mice overexpressing human NPC1L1 specifically in liver. Macrophage-to-feces RCT was assayed in L1-KO and L1^{LivOnly} mice injected intraperitoneally with [³H]-cholesterol-labeled peritoneal macrophages isolated from C57BL/6 mice. Inhibition of biliary sterol secretion by hepatic overexpression of NPC1L1 substantially reduced transport of [³H]-cholesterol from primary peritoneal macrophages to the neutral sterol fraction in bile and feces in L1^{LivOnly} mice without affecting tracer excretion in the bile acid fraction. Ezetimibe treatment for 2 weeks completely restored both biliary and fecal excretion of [³H]-tracer in the neutral sterol fraction in L1^{LivOnly} mice. High-density lipoprotein kinetic studies showed that L1^{LivOnly} mice compared with L1-KO mice had a significantly reduced fractional catabolic rate without altered hepatic and intestinal uptake of high-density lipoprotein-cholesterol ether.

Conclusions—In mice lacking intestinal cholesterol absorption, macrophage-to-feces RCT depends on efficient biliary sterol secretion, and ezetimibe promotes macrophage RCT by inhibiting hepatic NPC1L1 function. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:920-925.)

Rôle de la CETP dans le transport inverse du cholestérol macrophagique



L'échec (transitoire) des inhibiteurs de CETP

2007. Torcetrapib (Pfizer®) : « Full-inhibitor » (↑72% HDL-C , ↓ 25% LDL)
⇒phase 3 stopped because ↑ CV risk & total mortality.
« Off-target » action on aldosterone production with hypertension

2012. Dalcetrapib (Roche®) : « Modulator » (↑ 40% HDL-)
⇒phase 3 (DAL-OUTCOMES) stopped for futility.

Still ongoing...

Anacetrapib (Merck®) : « Full-inhibitor » (DEFINE study: ↑140% HDL-C , ↓ 40% LDL)
⇒phase 3 CV outcomes ongoing (**REVEAL**)

Evacetrapib (Lilly®) : « Full-inhibitor » (↑100% HDL-C, ↓ 30% LDL %)
phase 3 CV outcomes ongoing (**ACCELERATE**)

Dietary modifications

Dietary cholesterol	Cholesterol-enriched diet	Hamsters	Peritoneal	↓	[89]
Dietary cholesterol and fat	Saturated fatty acid- and cholesterol-enriched diet	Wild-type mice	P388D1	↑	[90]
	Saturated fatty acid-enriched diet	Wild-type mice	P388D1	=	[90]
Coffee	Coffee	Wild-type mice	RAW 264.7	=	[91]
	Ferulic acid	Wild-type mice	RAW 264.7	↑	[91]

Annema W. et al - Nutrition & metabolism 2012

