

## L'urotensine II : de l'urophyse des poissons aux motoneurones humains

La transmission neuropeptidergique est de loin le mode de communication le plus versatile au niveau du système nerveux central. En raison de l'extrême diversité structurale des neuropeptides et de la multiplicité de leurs récepteurs, les échanges d'informations entre cellules nerveuses s'effectuent par l'intermédiaire d'une combinatoire sémantique infiniment complexe. Malgré l'intensité des recherches menées depuis plusieurs décennies [1], nos connaissances sur la structure primaire et les rôles physiologiques des neuropeptides restent très fragmentaires. Le nombre de neuropeptides actuellement identifiés ne représente qu'une faible proportion des peptides biologiquement actifs synthétisés par les cellules nerveuses. Le clonage à grande échelle de récepteurs à sept domaines transmembranaires orphelins, dont les neuropeptides sont les ligands potentiels, ouvre de nouvelles perspectives aux équipes qui se sont lancées dans la course à l'isolement de peptides régulateurs.

### Identifier de nouveaux peptides régulateurs

Différentes stratégies sont actuellement mises en œuvre pour identifier de nouveaux neuropeptides : purification de fractions actives à partir d'extraits tissulaires, analyse des séquences nucléotidiques, synthèse combinatoire de peptides artificiels [2]. Une approche originale consiste à rechercher l'existence chez les mammifères de neuropeptides apparentés à ceux antérieurement identifiés chez des espèces moins évoluées. C'est ainsi qu'ont été découvertes au cours des dernières années la *melanin-concentrating hormone* (MCH) (*m/s* 1996, n° 5, p. 625) [3], un neuropeptide initialement caractérisé chez les poissons en raison de son effet sur la

pigmentation de la peau [4] et le neuropeptide FF [5], un peptide aux effets anti-opioïdes dont la séquence présente des analogies avec le tétra-peptide cardio-excitateur des mollusques FMRFamide [6]. La pertinence de cette approche comparative vient d'être confirmée avec un autre peptide régulateur identifié à l'origine chez les poissons téléostéens, l'urotensine II.

### Des poissons téléostéens...

L'extrémité caudale de la moelle épinière des poissons téléostéens possède une population de neurones neurosécréteurs qui projettent leurs axones dans un organe richement vascularisé appelé urophyse [7] (*figure 1*). L'organisation morphofonctionnelle de l'urophyse est très semblable à celle de la neurohypo-

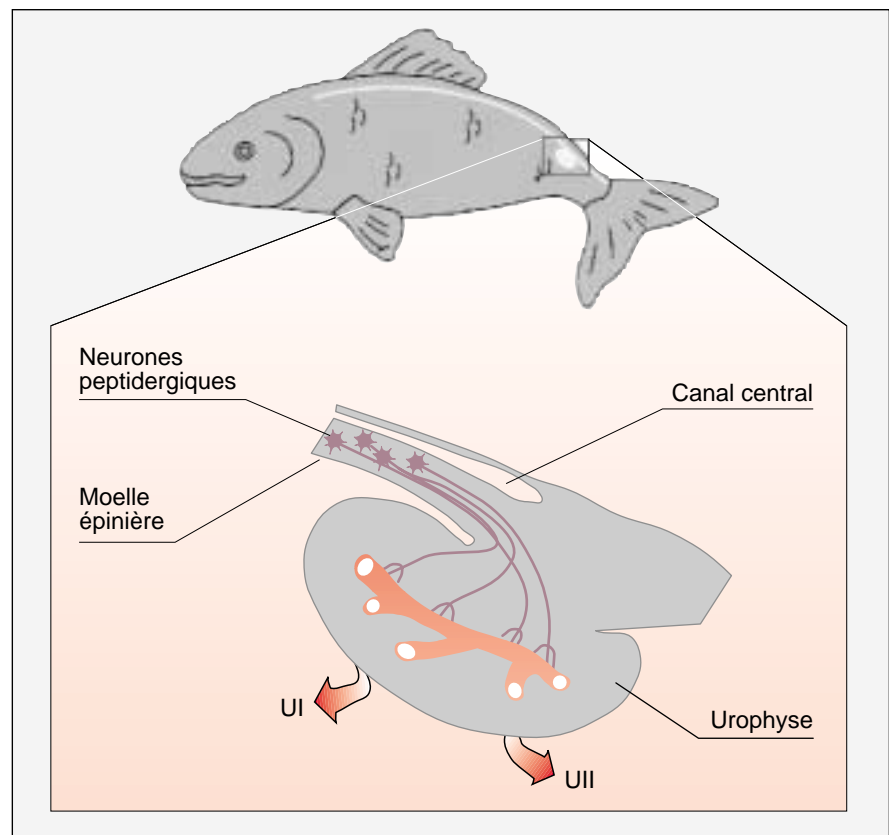


Figure 1. **Représentation schématique de l'organe neurosécréteur caudal des poissons téléostéens.** Des neurones peptidergiques, dont les corps cellulaires sont localisés dans la portion caudale de la moelle épinière, projettent leurs axones au voisinage des capillaires sanguins de l'urophyse. Ce système neurosécréteur présente des analogies évidentes avec le complexe hypothalamo-neurohypophysaire. UI : urotensine I ; UII : urotensine II.

physe : les terminaisons peptidergiques issues de la colonne ventrale de la moelle épinière libèrent leur contenu au voisinage immédiat de capillaires sanguins qui débouchent dans la circulation générale. Deux peptides biologiquement actifs ont été à ce jour caractérisés à partir d'extraits d'urophyse : l'urotensine I, un peptide de 41 acides aminés découvert par l'équipe de Karl Leders à l'Université de Calgary (Canada) [8], qui présente d'importantes similitudes structurales avec la corticolibérine, et l'urotensine II, un peptide cyclique de 12 acides aminés découvert par David Pearson et l'équipe de Howard Bern à l'Université de Berkeley [9], qui possède certaines analogies avec la somatostatine. L'urophyse étant un organe particulier aux téléostéens, il a longtemps été admis que les gènes codant pour les urotensines étaient exclusivement présents chez les poissons.

La caractérisation de l'urotensine II dans un extrait de cerveau de grenouille verte européenne (*Rana ridibunda*) a battu en brèche cette hypothèse [10] : (1) le gène de l'urotensine II est présent non seulement chez les poissons mais aussi chez certains tétrapodes ; (2) il apparaît de plus que l'urotensine II n'est pas l'apanage des neurones spinaux mais est également contenue au niveau du cerveau. Une étude immunohistochimique [11] a démontré que, chez les amphibiens, l'urotensine II est localisée dans certains motoneurones situés dans le tronc cérébral et dans la moelle épinière (figure 2). L'urotensine a été également purifiée et séquencée à partir du cerveau de lamproie (*Lampetra fluviatilis* et *Petromyzon marinus*) et de raie (*Raja rhina*) [12, 13], confirmant que l'expression du peptide n'est pas confinée aux neurones de la portion caudale de la moelle épinière [14]. L'existence d'une urotensine II chez les cyclostomes, les poissons et les amphibiens suggérerait qu'un peptide apparenté pouvait être présent dans toutes les classes de vertébrés, des agnathes aux mammifères [15]. A l'appui de cette hypothèse, des études pharmacologiques ont montré que l'urotensine II des poissons exerce un effet myorelaxant sur le

muscle anococcygéen de la souris [16] et un effet contracteur sur l'aorte de rat [17]. *In vivo*, l'urotensine II produit une forte hypertension chez le rat [18]. De plus, des sites de liaison de haute affinité ont été mis en évidence au niveau de l'aorte du rat [19]. Enfin, la découverte dans le cerveau du rat de l'urocortine [20], un peptide apparenté à l'urotensine I, montrait que les urotensines pouvaient être effectivement exprimées chez les mammifères (*m/s* 1996, n° 12, p. 249). Toutefois, chez ces derniers, aucun peptide de type urotensine II n'avait jusqu'à présent été caractérisé.

### ... à l'homme

Les chercheurs de l'Unité Inserm 413 ont récemment cloné l'ADNc codant pour le précurseur de l'urotensine II chez la grenouille [21]. L'organisation générale de la protéine est semblable à celle décrite antérieurement chez les poissons [22], l'urotensine II étant située à l'extrémité C-terminale du précurseur (figure 3). La localisation des ARNm par hybridation *in situ* a confirmé que le gène de l'urotensine II est exprimé exclusivement dans les motoneurones du tronc cérébral et de la moelle épinière. Une partie de

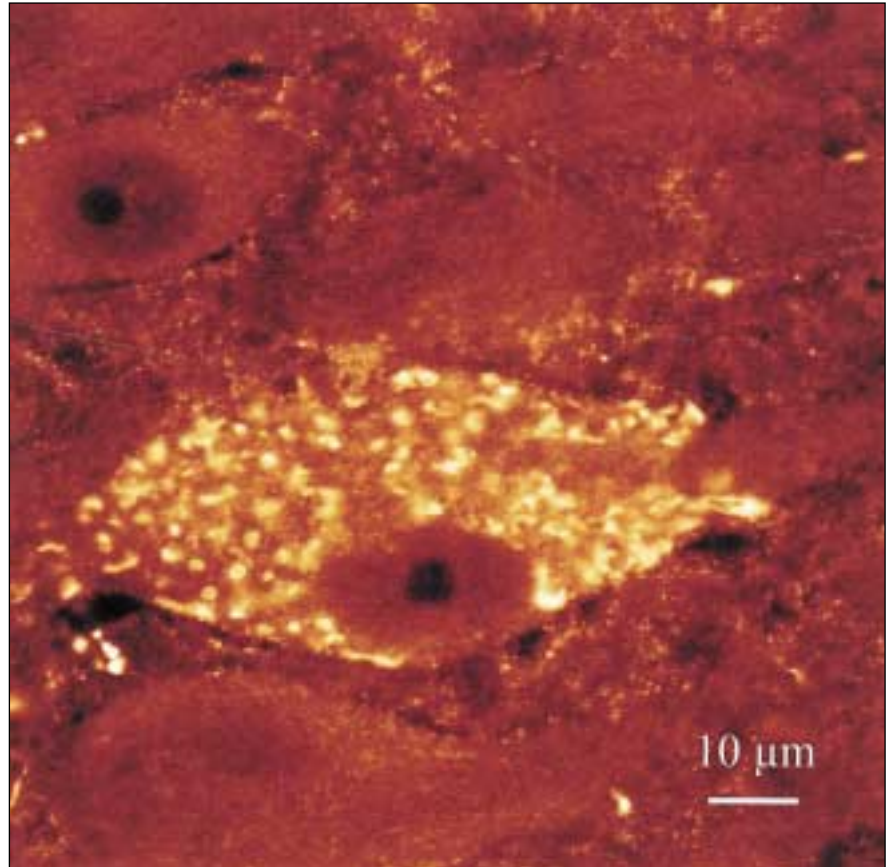


Figure 2. **Localisation immuno-histochimique de l'urotensine II dans un motoneurone de la moelle épinière de grenouille.** Le marquage a été effectué avec un anticorps dirigé contre la région carboxy-terminale cyclique de l'urotensine II d'un poisson, région dont la séquence a été fortement conservée au cours de l'évolution. L'observation de la coupe au microscope confocal à balayage laser montre clairement que l'immunoréactivité est localisée dans des vésicules. On notera également que certains motoneurones ne contiennent pas d'urotensine II.

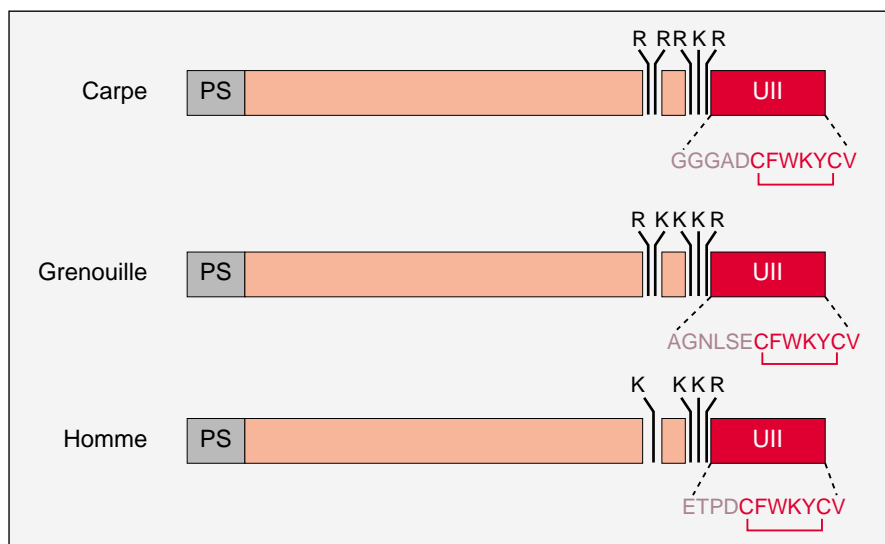


Figure 3. **Représentation schématique des précurseurs de l'urotensine II chez la carpe, la grenouille et l'homme.** La structure primaire des différentes urotensines II (Ull) est indiquée. Les doublets ou triplets d'acides aminés basiques (K, lysine; R, arginine) qui constituent les sites de clivage potentiels par les prohormone-convertases sont représentés. On remarque que la séquence de la région carboxy-terminale cyclique, qui est nécessaire à l'activité vasoconstrictrice des urotensines, a été fortement conservée au cours de l'évolution. PS: peptide signal.

l'ADNc codant pour le précurseur de l'urotensine II humaine a ensuite été cloné à partir d'une tumeur de côlon, puis l'ADNc complet a été caractérisé dans la moelle épinière [21]. La comparaison des séquences montre que la région carboxy-terminale du précurseur, qui correspond à l'urotensine II, a été bien conservée depuis les poissons jusqu'à l'homme. En particulier, l'heptapeptide cyclique situé à l'extrémité carboxy-terminale, qui est nécessaire à l'activité pharmacologique des urotensines [19], présente rigoureusement la même structure chez la grenouille et chez l'homme. En revanche, aucune similitude significative n'est observée dans la région flanquante amino-terminale, ce qui suggère que l'urotensine II est le seul peptide biologiquement actif issu du précurseur. Chez l'homme, le gène de l'urotensine II est fortement exprimé au niveau de la moelle épinière. Toutefois, la présence d'ARNm de l'urotensine II a aussi été détectée dans divers organes périphériques tels

que le rein, la rate, l'intestin, le thymus et la prostate, ainsi que dans certaines glandes endocrines dont l'hypophyse et la sur-rénale [21]. Dans la moelle épinière, chez l'homme comme chez la grenouille, le gène de l'urotensine II semble exclusivement exprimé dans les motoneurons. Par ailleurs, l'urotensine II a été caractérisée dans un extrait de moelle épinière de grenouille [11] indiquant que la biosynthèse et la maturation du précurseur sont effectivement assurées par les neurones spinaux.

### Un neuropeptide des motoneurons

L'existence d'un nouveau neuropeptide dans les motoneurons n'est pas une observation banale. Jusqu'à présent, le *calcitonin gene-related peptide* (CGRP) était le seul neuropeptide dont la présence avait été démontrée dans les motoneurons de sujets adultes (*m/s* 1987, n° 2, p. 116). Certaines études indiquent que le CGRP pourrait jouer un rôle important au

niveau de la jonction neuromusculaire en modulant l'expression des sous-unités du récepteur nicotinique [23]. Le CGRP semble également pouvoir agir directement sur la survie et/ou la régénération des motoneurons [24]. On peut donc s'attendre à ce que les équipes qui travaillent sur la physiopathologie des motoneurons s'intéressent de près aux effets neurotrophiques potentiels de l'urotensine II.

Avant d'émettre des hypothèses sur les rôles éventuels de l'urotensine II chez l'homme, plusieurs questions importantes doivent être résolues. Il faudra en premier lieu établir la cartographie du peptide dans le système nerveux central et rechercher sa localisation cellulaire dans les organes périphériques où les ARNm ont été détectés. Il conviendra en particulier de déterminer si le peptide est effectivement transporté par les axones des motoneurons jusqu'à la jonction neuromusculaire. L'expression du gène de l'urotensine II dans la moelle épinière devra être étudiée au cours de l'ontogénèse, dans divers modèles animaux, ainsi que chez les sujets atteints de sclérose latérale amyotrophique. Enfin, les récepteurs de l'urotensine II devront être rapidement identifiés afin de rechercher des ligands non peptidiques dont l'utilisation thérapeutique pourrait être envisagée.

L'histoire de l'urotensine II, découverte d'abord chez les poissons [9], caractérisée ultérieurement chez la grenouille [10, 11], puis identifiée tout récemment chez l'homme [21], illustre s'il en était besoin l'importance de la démarche phylogénétique dans la découverte de nouveaux neuropeptides. Ainsi, après la MCH [3, 4], le neuropeptide FF [5, 6], l'urocortine [8, 20], la sécrétoeurine [25, 26], les variants de somatostatine [27, 28], les variants de GnRH [29, 30], le club des neuropeptides découverts chez l'homme par une approche comparative vient de s'enrichir, avec l'urotensine II, d'un membre supplémentaire. Nos lointains ancêtres poïkilothermes, aquatiques ou amphibiens, sont décidément de précieux auxiliaires pour les chercheurs en quête de nouveaux peptides neuroactifs ■



## RÉFÉRENCES

1. Myers RD. Neuroactive peptides: unique phases in research on mammalian brain over three decades. *Peptides* 1994; 15: 367-81.
2. Chartrel N, Braun B, Collin F, Pierreuse B, Coulouarn Y, Tostivint H, Jeandel L, Trabucchi MC, Vieau D, Lihmann I, Tonon MC, Anouar Y, Conlon JM, Vaudry H. Stratégie d'identification de nouveaux neuro-peptides. *CR Soc Biol* 1998; 192: 619-38.
3. Presse F, Nahon JL, Fisher WH, Vale W. Structure of the human melanin-concentrating hormone mRNA. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 632-7.
4. Kawachi H, Kawazoe I, Tsubokawa M, Kishida M, Baker BI. Characterization of melanin-concentrating hormone in chun salmon pituitaries. *Nature* 1983; 305: 321-3.
5. Yang HYT, Fratta W, Majane EA, Costa E. Isolation, sequencing, synthesis and pharmacological characterization of two brain neuropeptides that modulate the action of morphine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7757-61.
6. Price DA, Greenberg MJ. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide. *Science* 1977; 197: 670-1.
7. Bern HA. The caudal neurosecretory system: quest and bequest. In: Epplé A, Scanes CG, Stetson M, eds. *Progress in comparative endocrinology*. New York: Wiley-Liss, 1990; 242-9.
8. Lederis K, Letter A, McMaster D, Moore G, Schlesinger D. Complete aminoacid sequence of urotensin I, a hypotensive and corticotropin-releasing neuropeptide from *Catostomus*. *Science* 1982; 218: 162-4.
9. Pearson D, Shively JE, Clark BR, Geschwind II, Barkley M, Nishioka RS, Bern HA. Urotensin II: a somatostatin-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 5021-4.
10. Conlon JM, O'Harte F, Smith DD, Tonon MC, Vaudry H. Isolation and primary structure of urotensin II from the brain of a tetrapod, the frog *Rana ridibunda*. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 188: 578-83.
11. Chartrel N, Conlon JM, Collin F, Braun B, Waugh D, Vallarino M, Lahrichi SL, Rivier JE, Vaudry H. Urotensin II in the central nervous system of the frog *Rana ridibunda*: immunohistochemical localization and biochemical characterization. *J Comp Neurol* 1996; 364: 324-39.
12. Waugh D, Conlon JM. Purification and characterization of urotensin II from the brain of a teleost (trout, *Oncorhynchus mykiss*) and an elasmobranch (skate, *Raja rhina*). *Gen Comp Endocrinol* 1993; 92: 419-27.
13. Waugh D, Youson J, Mims SD, Sower S, Conlon JM. Urotensin II from the river lamprey (*Lampetra fluviatilis*), the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) and the paddlefish (*Polyodon spathula*). *Gen Comp Endocrinol* 1995; 99: 323-32.
14. Yulis CR, Lederis K. Extraurophyseal distribution of urotensin II immunoreactive neuronal perikarya and their processes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7079-83.
15. Conlon JM, Tostivint H, Vaudry H. Somatostatin- and urotensin II-related peptides: molecular diversity and evolutionary perspectives. *Regul Peptides* 1997; 69: 95-103.
16. Gibson A, Bern HA, Ginsburg M, Botting JH. Neuropeptide-induced contraction and relaxation of the mouse anococcygeus muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 625-9.
17. Gibson A. Complex effects of Gillichthys urotensin II on rat aortic strips. *Br J Pharmacol* 1987; 91: 205-12.
18. Hasegawa K, Kobayashi Y, Kobayashi H. Vasodepressor effects of urotensin II in rats. *Neuroendocrinol Lett* 1992; 14: 357-63.
19. Itoh H, McMaster D, Lederis K. Functional receptors for fish neuropeptide urotensin II in major rat arteries. *Eur J Pharmacol* 1988; 149: 61-6.
20. Vaughan J, Donaldson C, Bittencourt J, Perrin MH, Lewis K, Sutton S, Chan R, Turnbull AV, Lovejoy D, Rivier J, Sawchenko PE, Vale W. Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor. *Nature* 1995; 378: 287-92.
21. Coulouarn Y, Lihmann I, Jégou S, Anouar Y, Tostivint H, Beauvillain JC, Conlon JM, Bern HA, Vaudry H. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15803-8.
22. Ohsako S, Ishida I, Ichikawa T, Deguchi T. Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding precursors of urotensin II-alpha and -gamma. *J Neurosci* 1986; 6: 2730-5.
23. Changeux JP, Duclert A, Sekine S. Calcitonin gene-related peptide and neuromuscular interactions. *Ann NY Acad Sci* 1992; 657: 361-78.
24. Sala C, Andreose JS, Fumagalli G, Lomo T. Calcitonin gene-related peptide: possible role in formation and maintenance of neuromuscular junctions. *J Neurosci* 1995; 15: 520-8.
25. Vaudry H, Conlon M. Identification of a peptide arising from the specific post-translational processing of secretogranin II. *FEBS Lett* 1991; 284: 31-3.
26. Schürmann G, Bishop AE, Eder PFU, Fisher-Collbrie R, Polak JM. Secretoneurin: a new peptide in the human enteric nervous system. *Histochem Cell Biol* 1995; 104: 11-9.
27. Tostivint H, Lihmann I, Bucharles C, Vieau D, Coulouarn Y, Fournier A, Conlon JM, Vaudry H. Occurrence of two somatostatin variants in the frog brain: characterization of the cDNAs, distribution of the mRNAs and receptor-binding affinities of the peptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 12605-10.
28. de Lecea L, Criado JR, Prospero-Garcia O, Gautvik KM, Schweitzer P, Danielson PE, Dunlop CLM, Siggins JR, Henriksen SJ, Sutcliffe JG. A cortical neuropeptide with neuronal depressant and sleep-modulating properties. *Nature* 1996; 381: 242-5.
29. Sherwood N. The GnRH family of peptides. *Trends Neurosci* 1987; 10: 129-32.
30. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 305-9.

### Hubert Vaudry

Directeur de recherche à l'Inserm.

### Yolaine Coulouarn

Étudiante en thèse.

### Isabelle Lihmann

Chargée de recherche à l'Inserm.

### Nicolas Chartrel

Chargé de recherche à l'Inserm.

### Bénédicte Braun

Ingénieur d'études contractuel.

### Sylvie Jégou

Chargée de recherche à l'Inserm.

### Marie-Christine Tonon

Directeur de recherche à l'Inserm  
Inserm U.413, Institut fédératif de recherches multidisciplinaires sur les peptides n° 23, Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan Cedex, France.

### Jean-Claude Beauvillain

Directeur de recherche à l'Inserm, Inserm U.422, place de Verdun, 59045 Lille Cedex, France.

### J. Michael Conlon

Professeur, Regulatory Peptide Center, Department of Biomedical Sciences, Creighton University School of Medicine, Omaha NE 68178, États-Unis.

### Howard A. Bern

Professeur, Department of Integrative Biology and Cancer Research Laboratory, University of California, Berkeley, CA 94720, États-Unis.

## TIRÉS À PART

H. Vaudry.