

## Implication du récepteur Y1 du neuropeptide Y (NPY) dans la douleur et l'inflammation

*L'identification des différents récepteurs du neuropeptide Y et leur invalidation chez la souris permet, depuis quelques années, de spécifier leur rôle physiologique et pharmacologique dans la transduction des effets de ce peptide. C'est le cas dans les phénomènes douloureux dans lesquels le récepteur Y1 joue un rôle essentiel dans la transduction des effets analgésiques du NPY et dans*

*la définition du seuil de sensibilité douloureux. De plus, le NPY via son récepteur Y1, est impliqué dans le développement d'une inflammation neurogène en contrôlant la libération de substance P par les fibres sensorielles C. Ces données récentes soulignent l'intérêt thérapeutique potentiel du développement d'agonistes ou d'antagonistes spécifiques des différents récepteurs du NPY.*

Le neuropeptide Y (NPY) est un peptide de 36 acides aminés, fortement exprimé dans le système nerveux central [1]. Découvert en 1982 par Tatemoto *et al.* [2], il exerce un rôle important dans l'homéostasie énergétique (pour revue, voir [3, 4]). Son injection dans l'hypothalamus produit une augmentation de la prise de nourriture associée à une baisse des dépenses énergétiques. L'obésité observée chez le rat après un traitement prolongé par le NPY souligne son important effet orexigène [5]. Puis, la mise en évidence d'autres actions du NPY comme des effets anxiolytiques, antiépileptiques et vasoconstricteurs, dans divers modèles animaux, a révélé les multiples potentialités de ce neuropeptide (pour revue, voir [6]). La caractérisation des récepteurs de ce neuropeptide a représenté une étape importante pour la compréhension de ces mécanismes d'action, et est un premier pas vers d'éventuelles applications thérapeutiques. Des études de liaison de différents fragments agonistes du NPY avaient d'abord suggéré l'existence de trois types de récepteurs, appelés Y1, Y2 et Y3. Les expériences de clonage ont en effet confirmé l'existence de gènes indépendants, spécifiant Y1 et Y2 [7, 8], mais le gène codant pour Y3 n'a pu être cloné. En revanche, deux nouveaux récepteurs (Y5 et Y6), présentant des affinités proches de Y1

pour le NPY, ont été caractérisés [9, 10] (Tableau I). Les récepteurs Y sont des membres de la famille des récepteurs couplés à des protéines G hétérodimériques. La détection de ces différents récepteurs dans le système nerveux, central et périphérique [11], ainsi que la réactivité croisée des agonistes, jusqu'à présent considérés comme spécifiques de Y1 et Y2, avec Y5 et Y6 ont remis en question l'interprétation des résultats obtenus par les études pharmacologiques. Aussi, durant ces dernières années, de nombreux groupes ont tenté de définir l'implication de chacun de ces récepteurs dans les fonctions physiologiques du NPY, en produisant des souris dont les gènes codant pour Y1, Y2 ou Y5 ont été invalidés [12-15]. Les premières études du phénotype de ces souris ont révélé le rôle prépondérant de Y1 et Y5 dans l'effet orexi-

gène du NPY [12-14, 16], et l'implication de Y1 dans ses effets vasoconstricteurs [16]. Plus récemment, l'analyse de ces souris mutantes nous a permis de définir l'implication de Y1 dans la nociception et l'inflammation neurogène.

### NPY et douleur

Les effets pharmacologiques du NPY sur la douleur sont connus depuis longtemps: dès 1991, Hua *et al.* montraient en effet que son injection dans la moelle épinière avait un effet analgésique [17]. D'un point de vue anatomique, les stimulus douloureux sont véhiculés par des fibres nerveuses sensorielles issues des ganglions de la racine dorsale de la moelle épinière. Au sein de ces ganglions, les neurones nociceptifs se caractérisent par leur petite taille. Leurs terminaisons axonales cen-

Tableau I. Affinité des récepteurs Y pour les différents agonistes synthétiques du neuropeptide.

	Y1	Y2	Y5	Y6
Leu31,Pro34]NPY	+++	0	++	++
NPY13-36	0	+++	++	?
[D-Trp32]NPY	0	0	+++	?

[Leu31, Pro34] NPY est issu de deux mutations ponctuelles en position 31 et 34 du peptide et est un agoniste des récepteurs de type Y1, Y5 et Y6. Le peptide NPY13-36 correspond à une forme tronquée du NPY (acides aminés de 13 à 36); c'est un agoniste des récepteurs de type Y2, mais il peut également interagir avec Y5 avec une affinité diminuée. Récemment obtenu, [D-Trp32]NPY serait l'un des agonistes les plus spécifiques de Y5.

trales sont retrouvées dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière, d'où le signal est transmis à des structures supraspinales. L'expression de Y1 par ces neurones sensoriels de petite taille [11, 18] expliquerait les effets analgésiques observés chez l'animal sain lors de l'utilisation d'agonistes spécifiques [19]. Quant au récepteur Y2, il n'a été détecté dans ces neurones qu'à la suite d'une lésion du nerf sciatique [11, 18], et l'induction de son expression serait à la base des effets analgésiques des agonistes de Y2, observés chez l'animal ayant subi une lésion de ce nerf [19].

L'obtention de souris invalidées pour Y1 nous a permis de préciser le rôle physiologique de ce récepteur dans la nociception [20]. Les effets antinociceptifs normalement observés après injection intrathécale du NPY sont totalement absents chez les souris mutantes, confirmant le rôle majeur de ce récepteur dans les effets pharmacologiques analgésiques du neuropeptide. Grâce à l'utilisation d'une batterie de tests mettant en jeu divers types de stimulations périphériques nociceptives, nous avons pu mettre en évidence un rôle physiologique majeur du récepteur Y1 dans la détermination du seuil de sensibilité à la douleur [20] (Tableau II). Les sensations douloureuses provenant de zones profondes (douleur viscérale) ou superficielles (peau) peuvent être induites par des stimulus thermiques, mécaniques ou chimiques qui font intervenir différentes voies de transmission selon leur intensité, leur durée d'application ou leur nature. L'inactivation de Y1 provoque une hyperalgésie dans le test de la plaque

chauffante qui implique des niveaux d'intégration supraspinaux associés au retrait de la patte, et dans un test de sensibilité de la queue à des stimulus thermiques (test du *tail-flick*) qui ne fait intervenir qu'un arc réflexe spinal. Les souris mutantes sont également plus sensibles à des stimulus mécaniques (« poils » de von Frey). L'étude de la nociception cutanée chimique, par l'injection de formoline, a permis de révéler une implication de Y1 dans la réponse immédiate, liée à l'activation directe des fibres C. En revanche, la douleur retardée associée à la lésion n'est pas modifiée. Par ailleurs, Y1 a un rôle dans la transmission des douleurs viscérales aussi bien immédiates (test au MgSO4) que secondaires à une inflammation (test à l'acide acétique). L'ensemble de ces résultats suggère que le NPY agit au niveau d'afférences nociceptives polymodales (fibres C) exprimant Y1, lesquelles transmettent les sensations douloureuses des tissus viscéraux et cutanés. On sait par ailleurs que le stress provoque une analgésie par des mécanismes qui dépendent soit des opioïdes endogènes (bain forcé à 33°C), soit de certains récepteurs du glutamate (bain forcé à 10°C). Après ces deux types de stress, aucune différence de sensibilité à la douleur (explorée dans le test de la plaque chauffante) n'est observée entre les souris sauvages et mutantes. Ceci indique que Y1 n'est pas un composant essentiel d'une analgésie liée au stress. Enfin, une ligature du nerf sciatique entraîne une allodynie, c'est-à-dire une hypersensibilité à un stimulus mécanique, plus marquée chez les souris mutantes que chez les

souris sauvages. Ceci révèle une implication de ce récepteur dans la douleur neuropathique (douleur due à une lésion nerveuse).

### Le NPY et l'inflammation

Le processus inflammatoire a des composantes neurogènes et non neurogènes [21]. L'inflammation neurogène implique la substance P (SP), un peptide de 11 acides aminés de la famille des tachykinines présent dans les fibres nerveuses sensorielles C ([22] et *m/s 1998, n° 6/7, p. 805*). L'activation de ces neurones provoque une libération de SP dans les tissus périphériques, comme la peau, entraînant une extravasation plasmatique et, par voie de conséquence, un œdème. Pour évaluer l'implication du récepteur Y1 dans la réaction inflammatoire, des agents irritants provoquant une inflammation non neurogène (carraghénanes) ou neurogène (capsaïcine, huile de moutarde) ont été administrés localement aux souris. De façon fort intéressante, l'analyse révèle que l'absence de récepteur Y1 inhibe totalement le développement de l'inflammation de type neurogène sans affecter l'inflammation non neurogène [20]. L'inflammation neurogène dépend de l'intégrité de la libération de SP par les terminaisons des fibres primaires C. Y1 pouvait donc intervenir en aval ou en amont de cette sécrétion. Les résultats montrent que la production de SP et l'expression de ses récepteurs ne sont pas modifiées chez les souris mutantes qui développent, du reste, une réponse inflammatoire identique à celle des souris sauvages après administration de SP. En revanche, la libération de la SP après administration de capsaïcine est altérée. Ces résultats indiquent que le récepteur Y1 est nécessaire à la libération de SP et au développement d'une inflammation neurogène (figure 1). L'activation de Y1 pourrait être due à une libération du NPY par les terminaisons sympathiques, toutefois ce point reste à confirmer. Enfin, l'induction d'une extravasation plasmatique après administration d'un agoniste de Y1 et l'inhibition, par un antagoniste de Y1, de la réaction inflamma-

Tableau II. Conséquences de la mutation de Y1 sur la sensibilité à la douleur.

Type de douleur	Sensibilité des souris Y <sup>-/-</sup> comparée à celle des souris sauvages
Douleur thermique	augmentée
Douleur mécanique	augmentée
Douleur chimique	augmentée
Douleur retardée	augmentée
Douleur viscérale	augmentée
Hypersensibilité après lésion nerveuse	augmentée
Analgésie induite par un stress	similaire

Des tests comportementaux ont révélé une hyperalgésie des souris invalidées pour Y1 (Y<sup>-/-</sup>) à des stimulus thermiques, mécaniques et chimiques ainsi qu'une hypersensibilité lors des douleurs neuropathiques. En revanche, l'absence de Y1 n'affecte pas l'hyperalgésie induite par le stress.

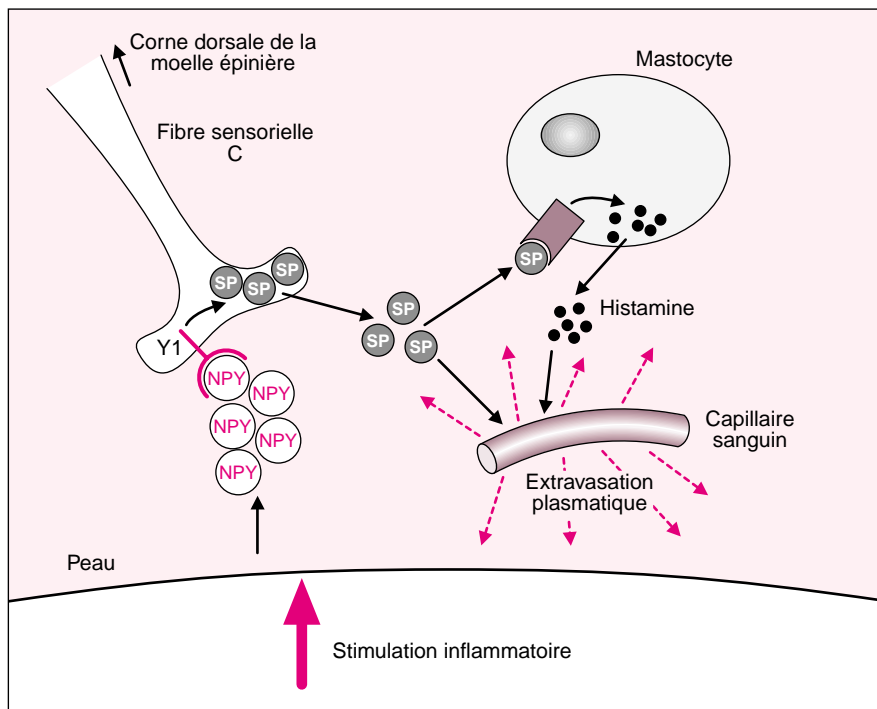


Figure 1. **Modèle hypothétique d'action du NPY sur l'extravasation plasmatique.** La liaison du NPY à son récepteur Y1, présent sur les fibres nerveuses sensorielles C, entraînerait une libération de la substance P. Ce peptide provoquerait en retour, une extravasation plasmatique en augmentant la perméabilité capillaire des vaisseaux, mais également en induisant la libération d'histamine par les mastocytes.

toire provoquée par la capsaïcine, démontrent que ce récepteur est nécessaire et suffisant pour induire une inflammation neurogène, en contrôlant la libération de SP [20].

### Conclusions

L'obtention de souris invalidées pour Y1 a permis de confirmer le rôle essentiel de ce récepteur dans la transduction des effets pharmacologiques du NPY. Elle a en particulier permis de révéler un rôle physiologique important du NPY et de son récepteur Y1 dans la nociception et l'inflammation neurogène. Ainsi, NPY, *via* son récepteur Y1, augmente le seuil de sensibilité à des stimulus douloureux thermiques, mécaniques et chimiques, et exerce des effets analgésiques dans le cas de douleurs neuropathiques. Par ailleurs, ces souris mutantes ont été déterminantes pour révéler un rôle jusqu'ici inédit du NPY: son implication dans le développement d'une inflammation neu-

rogène, en contrôlant la libération de la substance P par les fibres sensorielles C. Ainsi, certains antagonistes synthétiques de Y1 développés depuis quelques années pourraient se révéler intéressants dans une perspective thérapeutique de contrôle de la réaction inflammatoire. Il n'existe en revanche que peu, ou pas, d'agonistes synthétiques de Y1. A la lumière de ces résultats récents, il apparaît que le développement de telles molécules pourrait présenter un intérêt thérapeutique, notamment dans le traitement de la douleur ■

### RÉFÉRENCES

1. De Quidt ME, Emson PC. Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system II. Immunohistochemical analysis. *Neuroscience* 1986; 18: 545-618.
2. Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature* 1982; 296: 659-60.
3. White JD. Neuropeptide Y: a central regulator of energy homeostasis. *Reg Peptides* 1993; 49: 93-107.
4. Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F. Boucle régulatrice entre le neuropeptide Y et la leptine et son altération chez le rongeur obèse. *Med Sci* 1998; 14: 907-13.
5. Stanley BG, Leibowitz SF. Neuropeptide Y injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 3940-3.
6. Wettstein JG, Earley B, Junien JL. Central nervous system pharmacology of neuropeptide Y. *Pharmacol Ther* 1995; 65: 397-414.
7. Eva C, Keinänen K, Monyer H, Seeburg P, Sprengel R. Molecular cloning of a novel G-coupled receptor that may belong to the neuro peptide receptor family. *FEBS Lett* 1990; 271: 81-4.
8. Rose PM, Fernandes P, Lynch JS, *et al.* Cloning and functional expression of a cDNA encoding a human type 2 neuropeptide Y receptor. *J Biol Chem* 1995; 270: 22661-4.
9. Gerald C, Walker MW, Criscione L, *et al.* A receptor subtype involved in neuropeptide-Y-induced food intake. *Nature* 1996; 382: 168-71.
10. Weinberg DH, Sirinathsinghji DJ, Tan CP, *et al.* Cloning and expression of a novel neuropeptide Y receptor. *J Biol Chem* 1996; 271: 16435-8.
11. Naveilhan P, Neveu I, Arenas E, Ernfor P. Complementary and overlapping expression of Y1, Y2 and Y5 receptors in the developing and adult mouse nervous system. *Neuroscience* 1998; 87: 289-302.
12. Kanatani A, Mashiko S, Murai N, *et al.* Role of Y1 receptor in the regulation of neuropeptide Y-mediated feeding: comparison of wild type, Y1 receptor-deficient, and Y5 receptor-deficient mice. *Endocrinology* 2000; 141: 1011-6.
13. Kushi A, Sasai H, Koizumi H, Takeda N, Yokoyama M, Nakamura M. Obesity and mild hyperinsulinemia found in neuropeptide Y-Y1 receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15659-4.
14. Marsh D J, Hollopeter G, Kafer KE, Palmiter RD. Role of the Y5 neuropeptide Y receptor in feeding and obesity. *Nat Med* 1998; 4: 718-21.

## RÉFÉRENCES

15. Naveilhan P, Hassani H, Canals JM, *et al*. Normal feeding behaviour, body weight and leptin response requires the Y2 neuropeptide Y receptor. *Nat Med* 1999; 5: 1188-93.
16. Pedrazzini T, Seydoux J, Kunstner P, *et al*. Cardiovascular response, feeding behavior and locomotor activity in mice lacking the NPY Y1 receptor. *Nat Med* 1998; 4: 722-6.
17. Hua XY, Boublick JH, Spicer MA, Rivier JE, Brown MR, Yaksh TL. The antinociceptive effects of spinally administered neuropeptide Y in the rat: systematic studies on structure-activity relationship. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 258: 243-8.
18. Zhang X, Shi T, Holmberg K, *et al*. Expression and regulation of neuropeptide Y Y2 receptor in sensory and autonomic ganglia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 729-34.
19. Xu SX, Hao JX, Xu XJ, Hokfelt T, Wiesenfeld-Hallin Z. The effect of intrathecal selective agonists of Y1 and Y2 neuropeptide Y receptors on the flexor reflex in the normal and axotomized rats. *Brain Res* 1999; 833: 251-7.
20. Naveilhan P, Hassani H, Lucas G, *et al*. Reduced anti-nociception and inflammation in mice lacking neuropeptide Y Y1 receptors. *Nature* 2001; 409: 513-7.
21. Jancso N, Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol* 1967; 31: 138-51.
22. Cao YQ, Mantyh PW, Carlson EJ, Gillespie AM, Epstein CJ, Basbaum AI. Primary afferent tachykinins are required to experience moderate to intense pain. *Nature* 1998; 392: 390-4.

### Philippe Naveilhan

Laboratory of Molecular Neurobiology, Dept of Medical biochemistry and Biophysics, Karolinska Institute, S-17177 Stockholm, Suède.

Adresse actuelle: Inserm U. 437, 30, boulevard Jean-Monnet, 44093 Nantes Cedex 01, France.

## TIRÉS À PART

P. Naveilhan.

## BRÈVES

■■■ **L'absence d' $\alpha$ -caténine entraîne un phénotype de carcinome épidermique.** La cadhérine-E est un composant essentiel des jonctions adhérentes qui garantissent l'intégrité des épithéliums, et en particulier de l'épiderme. Le domaine intracytoplasmique de la cadhérine-E se lie d'une part à la  $\beta$ -caténine, un intermédiaire des voies de transduction et d'adhérence (*m/s* 2001 n°2, p. 257), et à l' $\alpha$ -caténine, qui, elle, se lie au cytosquelette d'actine. On connaît l'impact d'un dysfonctionnement des jonctions adhérentes en oncogénèse, et en particulier des mutations de la voie cadhérine-E- $\beta$ -caténine, mais les conséquences de l'absence d' $\alpha$ -caténine chez l'animal adulte (elle est létale chez l'embryon par anomalie du trophoctoderme) sont inconnues. Le groupe d'Elaine Fuchs a construit un mutant conditionnel en croisant des souris exprimant la recombinase Cre sous contrôle du promoteur de la kératine 14, qui ne s'exprime que dans l'épiderme, avec des souris dont le gène de l' $\alpha$ -caténine est « floxé ». De façon tout à fait inattendue, les nouveau-nés présentent au niveau de l'ensemble de leur épiderme les caractéristiques d'un carcinome squameux *in situ*. Le derme était à nu en de nombreuses zones, les moustaches absentes, les membres incomplètement développés. Histologiquement et en microscopie électronique, la continuité épithéliale était atteinte, avec une diminution des desmosomes et des jonctions serrées. Surtout, ce qui était très inattendu, l'absence d' $\alpha$ -caténine entraînait une hyperprolifération massive dans toutes les couches de l'épiderme, alors que normalement seule la couche profonde prolifère. Il en résultait la formation de masses désorganisées, et *in vitro* l'absence d'inhibition de contact normalement induite lors de l'adhérence homotypique entre les molécules de cadhérine E. Cette

prolifération anormale n'abolissait pas toute différenciation et les marqueurs involucrine et loricrine, caractéristiques des kératinocytes mûrs étaient exprimés par certaines cellules. Cette réaction proliférative ne reflète pas un processus de cicatrisation induit par la rupture de continuité épithéliale car elle n'existe pas chez les animaux dépourvus de desmoplakine, qui présentent les mêmes anomalies des jonctions adhérentes. La prolifération incontrôlée est due à une activation permanente de la voie Ras-MAPK, en réponse à une sensibilité accrue à l'insuline et à l'IGF-I (*insulin growth factor*). Curieusement, chez ces souris  $\alpha$ -caténine<sup>-/-</sup>, contrairement aux souris sauvages, l'IRS-1 (*insulin responsive substrate*) complexé à la cadhérine-E est phosphorylé en réponse à l'addition d'insuline. Il est donc probable que l'absence de l' $\alpha$ -caténine perturbe la réponse cellulaire à l'insuline, par un mécanisme encore mal compris, mais qui conduit à une prolifération incontrôlée. Reste à comprendre si ces données ont une application pour la compréhension des cancers cutanés humains.

[1. Vasioukhin V, *et al*. *Cell* 2001; 104: 605-17.]