

## **Syndrome de Cushing induit par le GIP : expression clinique d'un récepteur ectopique**

Les hyperplasies nodulaires et les tumeurs surrénaliennes avec hypercorticisme indépendant de l'ACTH pourraient n'être pas primitives, mais être dues à l'expression ectopique de récepteurs hormonaux. Trois cas viennent d'être rapportés d'un hypercorticisme modulé par l'alimentation, dont deux répondant au GIP (*gastric inhibitory polypeptide*). Ce syndrome est très probablement secondaire à l'expression aberrante du récepteur de ce polypeptide intestinal dans les cellules corticosurréaliennes. Il reste à déterminer quelles sont la fréquence, la diversité, les mécanismes moléculaires et le rôle de l'expression ectopique de récepteurs hormonaux membranaires dans la physiopathologie des tumeurs issues de cellules endocriniennes ou de toute autre cellule modulée par des hormones.

**André Lacroix  
Édouard Bolté  
Johanne Tremblay  
Pavel Hamet**

### ADRESSE

A. Lacroix : *agrégé de recherche et chef du service*. E. Bolté : *professeur*. J. Tremblay : *agrégée de recherche*. P. Hamet : *professeur et directeur du centre*. Service d'endocrinologie, métabolisme et nutrition, département de médecine, faculté de médecine, université de Montréal. Centre de recherche, Hôtel-Dieu de Montréal, 3850, rue Saint-Urbain, Montréal, Québec H2W 1T8, Canada.

La production excessive de cortisol par les glandes corticosurréales (syndrome de Cushing) peut avoir des origines diverses. Il est usuel de les classer selon qu'elles dépendent d'une production accrue d'ACTH (adénome corticotrope hypophysaire, sécrétion tumorale ectopique d'ACTH ou, plus rarement, de facteur de libération de l'ACTH [CRF]) ou qu'elles ne dépendent pas de l'ACTH (adénome ou carcinome corticosurréalien, certaines hyperplasies surréaliennes micro- ou macronodulaires bilatérales).

L'hypercorticisme primaire d'origine surrénalienne induit, par mécanisme de rétroaction négative, une inhibi-

tion du CRF responsable d'une dissociation nette entre l'hypercorticisme et des niveaux indétectables d'ACTH circulant. Il est bien établi que la synthèse de glucocorticoïdes par les cellules de la *zona fasciculata* et de la *zona reticularis* est réglée de façon prédominante par l'ACTH *via* son récepteur membranaire couplé à l'adénylate cyclase [1] ; la stimulation prolongée par l'ACTH provoque une induction de son récepteur et de la protéine Gs avec pour conséquence une sensibilité accrue à l'ACTH [2]. De plus, l'ACTH module la production autocrine de différents facteurs de croissance tels l'IGF-1, le TGF $\beta$ , le bFGF, dont le résultat est une prolifération corticosurrénalienne. Ces

effets prolifératifs de l'ACTH produisent une hyperplasie diffuse des surrénales chez les malades porteurs d'adénomes corticotropes hypophysaires ou ayant une sécrétion tumorale ectopique d'ACTH. Plus rarement, une stimulation à long terme peut être responsable d'une hyperplasie macronodulaire importante où la

taille des surrénales peut dépasser de plus de dix fois la normale. En revanche, les facteurs qui modulent la production de cortisol et la prolifération cellulaire dans l'hypercorticisme primaire d'origine surrénalienne demeurent largement inconnus ; ces lésions étaient habituellement considérées comme autonomes

puisqu'elles ne dépendent pas de l'ACTH. Des études récentes suggèrent au contraire que ces lésions surrénaliennes dites primaires sont secondaires à des anomalies diverses. Le syndrome de dysplasie micronodulaire pigmentaire, parfois familial à transmission autosomique dominante, peut faire partie du syndrome plus large de Carney, qui associe la présence des myxomes, de lésions cutanées pigmentées et de tumeurs de fibres nerveuses périphériques [3] ; la présence d'immunoglobulines stimulant la corticosurrénale, possiblement *via* le récepteur de l'ACTH, a été décrite récemment [3]. Dans le syndrome de McCune-Albright (dysplasie fibreuse polyostotique, pigmentation cutanée « café au lait » et endocrinopathies multiples incluant puberté précoce, hyperthyroïdie, adénomes hypophysaires somatotropes), la présence d'hyperplasie nodulaire surrénalienne autonome, indépendante de l'ACTH, a aussi été décrite ; des études récentes ont montré que ces lésions étaient secondaires à une mutation somatique du gène *Gsa*, probablement acquise pendant l'embryogenèse précoce. Cette mutation entraîne une mosaïque de cellules normales et mutantes qui activent de façon constitutive l'adénylate cyclase (AC) sans nécessiter l'occupation du récepteur par son ligand [4]. Dans le cas d'adénomes ou de cancers surrénaliens chez le rat ou l'humain, Robert Ney *et al.* [5, 6] avaient démontré *in vitro* une stimulation de l'AC du tissu tumoral par des hormones autres que l'ACTH qui ne stimulent pas normalement la cellule surrénalienne ; la notion de « récepteur aberrant ou ectopique » était proposée pour expliquer la stéroïdogénèse en l'absence d'ACTH. Nous avons récemment rapporté les premières observations de l'expression clinique *in vivo* de la présence probable de récepteurs ectopiques d'hormones gastro-intestinales dans la surrénale, responsables d'un syndrome de Cushing modulé par l'alimentation.

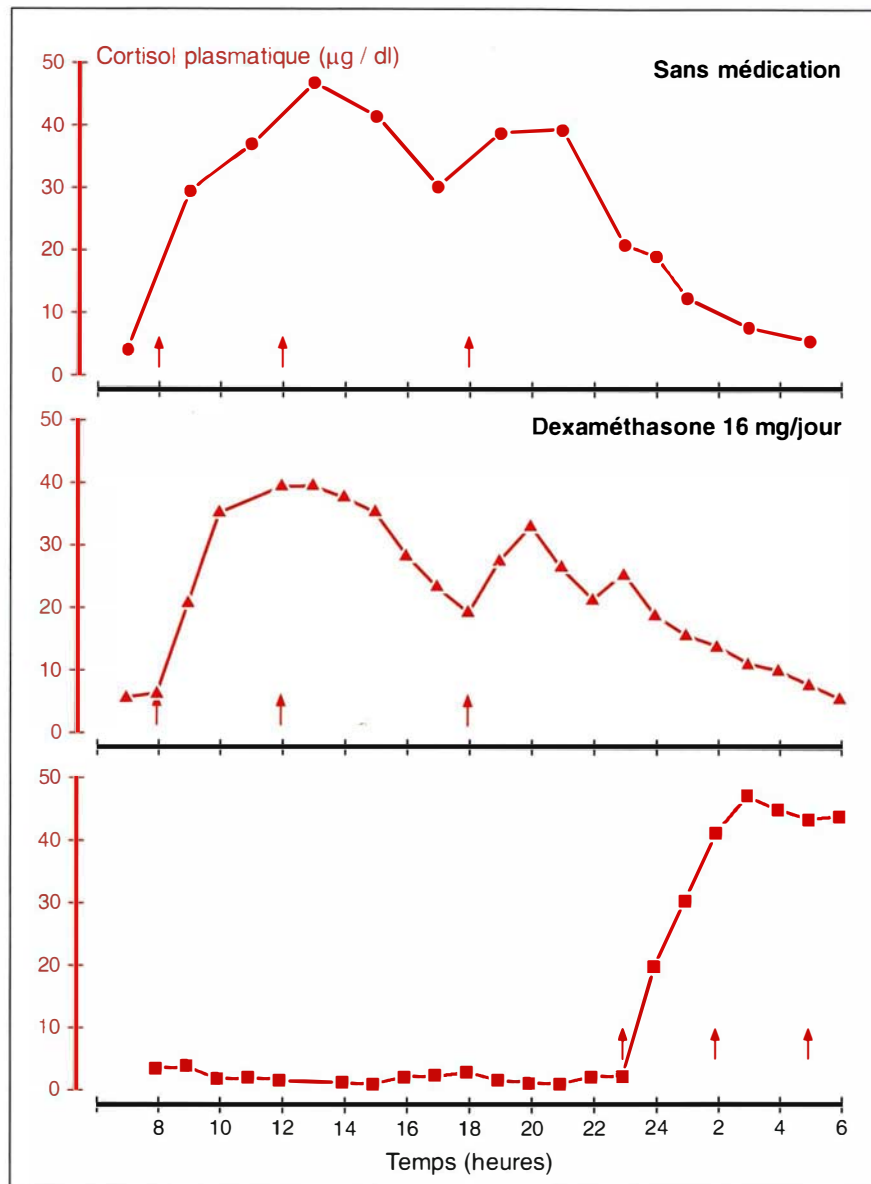


Figure 1. Cycle nyctéméral du cortisol plasmatique chez un patient avec syndrome de Cushing secondaire à un adénome surrénalien. Le cortisol plasmatique a été mesuré à intervalles fréquents pendant 24 heures soit sans médication (panneau du haut), soit pendant l'administration orale de 4 mg de dexaméthasone toutes les 6 heures (panneau du centre), soit pendant une journée où les repas furent omis le jour et consommés pendant la nuit (panneau du bas). Les flèches indiquent l'horaire des repas. (Modifié avec permission de Hamet *et al.* [7].)

## Syndrome de Cushing lié à l'alimentation

La première observation fut rapportée par Hamet *et al.* en 1987 [7]. Elle concernait un homme canadien fran-

## RÉFÉRENCES

1. Simpson ER, Waterman MR. Steroid hormone biosynthesis in the adrenal cortex and its regulation by adrenocorticotropin. In : DeGroot LJ, ed. *Endocrinology*. New York : W. B. Saunders Company, 1989 ; 1543-56.
2. Penhoat A, Jaillard C, Sazc JM. Corticotropin positively regulates its own receptors and cAMP response in cultured bovine adrenal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 4978-81.
3. Young WF Jr, Carney JA, Musa BU, Wulffraat NM, Lens JW, Drexhage HA. Familial Cushing's syndrome due to primary pigmented nodular adrenocortical disease. *N Engl J Med* 1989 ; 321 : 1659-64.
4. Weinstein LS, Shenker A, Gejman PV, Merino MJ, Friedman E, Spiegel AM. Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune Albright syndrome. *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 1688-95.
5. Schorr I, Rathman P, Saxena BB, Ney RL. Multiple specific hormone receptors in the adenylate cyclase of an adrenocortical carcinoma. *J Biol Chem* 1971 ; 246 : 5806-11.
6. Hinshaw HT, Ney RL. Abnormal hormonal control in the neoplastic adrenal cortex. In : McKerns KW, ed. *Hormones and Cancer*. New York : Academic Press, 1974 : 309-7.
7. Hamet P, Larochelle P, Franks DJ, Cartier P, Bolté E. Cushing syndrome with food-dependent periodic hormonogenesis. *Clin Invest Med* 1987 ; 10 : 530-3.
8. Lacroix A, Bolté E, Tremblay J, et al. Gastric inhibitory polypeptide-dependent cortisol hypersecretion : a new cause of Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1992 ; 327 : 974-80.
9. Brown JC. Gastric inhibitory polypeptide. *Monographs in Endocrinology*, vol. 24. Berlin, Germany : Springer-Verlag, 1982 : 1-83.
10. Olsen NJ, Fang VS, DeGroot LJ. Cushing's syndrome due to adrenal adenoma with persistent diurnal cortisol secretory rhythm. *Metabolism* 1978 ; 27 : 695-700.

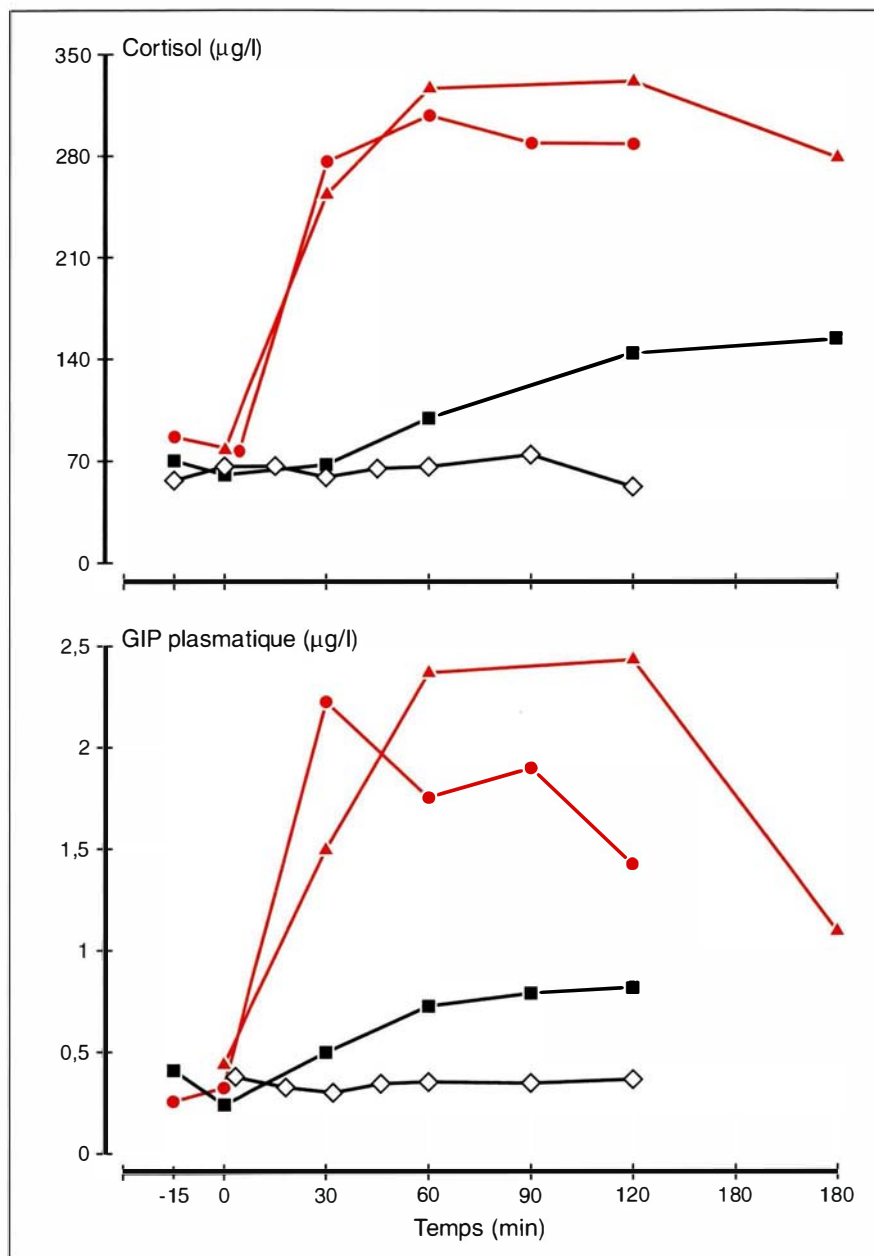


Figure 2. Réponse du cortisol et du GIP (gastric inhibitory peptide) plasmatiques à l'administration orale de 75 g de glucose (●), intraveineuse de 25 g de glucose (◊), d'un repas riche en lipides (▲) ou en protéines (■) chez une patiente avec un syndrome de Cushing secondaire à une hyperplasie macronodulaire des surrénales. (Modifié avec permission de Lacroix et al. [8].)

çais de 41 ans présentant un syndrome de Cushing et un adénome surrénalien gauche avec un niveau bas d'ACTH plasmatique. La mesure du cycle nyctéméral du cortisol plasmatique apporta des résultats étonnants : les niveaux de cortisol plasmatique étaient abaissés le matin à jeun (91-154 nmol/l ; normale : 276-828) et étaient élevés à 20 heures

(662-966 nmol/l ; normale : 138-414). L'augmentation du cortisol plasmatique semblait suivre les repas et n'était pas modifiée par la prise de dexaméthasone, même à forte dose (figure 1, p. 707) ; cela fut confirmé par la persistance d'un niveau bas de cortisol si le patient jeûnait pendant le jour, et sa prompte élévation après prise de repas pendant la nuit. Le

modulateur endogène de la production de cortisol ne fut pas déterminé *in vivo* chez ce patient ; *in vitro*, l'activité AC d'une préparation membranaire de l'adénome surrénalien était stimulée par l'ACTH, la vasopressine mais non par la FSH, le glucagon ou l'angiotensine II. La stimulation directe par des hormones gastro-intestinales ne fut pas recherchée, mais il fut proposé qu'« un facteur humoral induit par l'ingestion de nourriture était responsable de l'hormonogénèse périodique en stimulant directement la sécrétion de cortisol par la tumeur surrénalienne chez ce patient ».

La seconde observation, rapportée par Lacroix *et al.* en 1992 ([8], *m/s n° 9, vol. 8, p. 980*), fut faite chez une Canadienne française âgée de 48 ans présentant un syndrome de Cushing depuis environ deux ans. La tomographie axiale de l'abdomen révéla la présence d'hyperplasie macronodulaire des surrénales droite (5 × 3,5 cm) et gauche (4,5 × 3,7 cm) ; une stéroïdogénèse active au niveau des deux surrénales était démontrée par mesure de la captation de <sup>131</sup>I-iodocholestérol. Les niveaux indétectables d'ACTH plasmatique, y compris au niveau des sinus pétreux bilatéraux avant et suivant l'administration intraveineuse de CRF, démontraient clairement que la production de cortisol n'était pas dépendante de l'ACTH. L'observation d'un cycle inversé du cortisol plasmatique (6 heures : 218 nmol/l ; 20 heures : 460 nmol/l) incita à examiner l'effet des repas sur le cycle de 24 heures du cortisol plasmatique. Il s'avéra étonnamment similaire à celui observé chez le premier patient. L'élévation de cortisol pouvait être induite par une charge orale de 75 g de glucose (400 %), par un repas riche en lipides (480 %) ou en protéines (260 %), mais non par l'administration intraveineuse de 25 g de glucose (figure 2) ; de plus, l'augmentation du cortisol plasmatique induite par la charge orale en glucose fut réduite substantiellement (190 %) par l'infusion intraveineuse concomitante de somatostatine [8]. Ces observations suggéraient fortement que le médiateur endogène de la production de cortisol était une hormone gastro-intestinale. En revoyant la liste des

sécrétagogues des hormones gastro-intestinales, on pouvait constater que peu d'entre elles sont stimulées de façon similaire par le glucose par voie orale, par les lipides ou par les protéines. Le GIP (*gastric inhibitory polypeptide*) semblait être le meilleur can-

didat ; en effet sa sécrétion est stimulée principalement par les lipides et le glucose par voie orale, à un degré moindre par les protéines, et non par le glucose par voie intraveineuse ; de plus, sa sécrétion est inhibée par la somatostatine [9]. Le dosage des

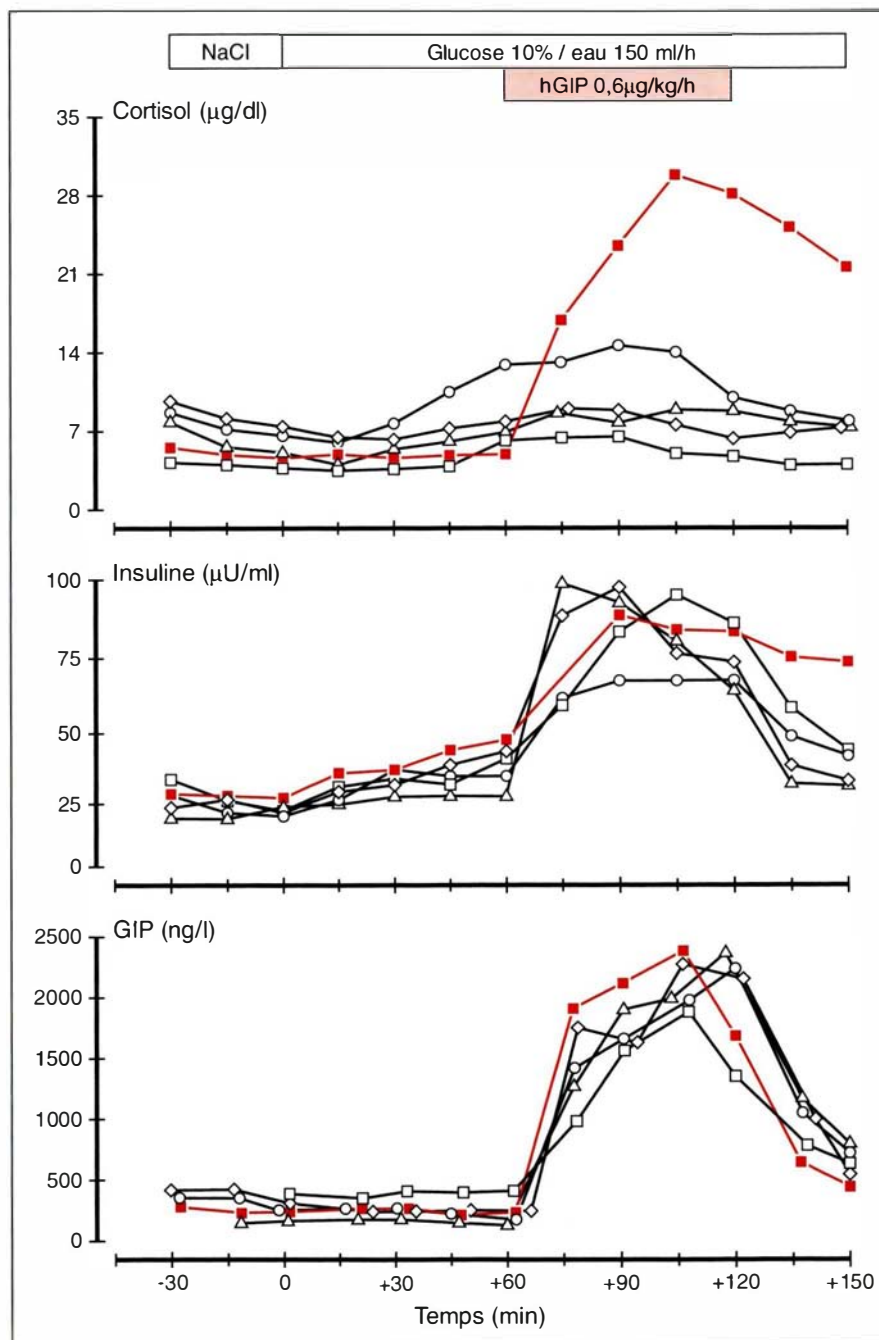


Figure 3. Concentrations plasmatiques de cortisol, insuline et GIP pendant une perfusion intraveineuse de glucose 10 % (150 ml/h) avec ou sans GIP (0,6 µg/kg/h) chez une malade atteinte d'un syndrome de Cushing modulé par l'alimentation (courbe rouge) et chez quatre sujets normaux (courbes noires). (Modifié avec permission de Lacroix *et al.* [8].)

## RÉFÉRENCES

11. Lacroix A, Bolté E, Poitras P, *et al.* Gastric inhibitory polypeptide dependent macronodular adrenal hyperplasia : a new etiology of Cushing's syndrome. *Endocrine Society (abstract)*. Washington DC : The Endocrine Society Press, 1991 : 91.
12. Reznik Y, Allali-Zerah V, Chayvialle JA, *et al.* Food-dependent Cushing's syndrome mediated by aberrant adrenal sensitivity to gastric inhibitory polypeptide. *N Engl J Med* 1992 ; 327 : 981-6.
13. Emami S, Chastre E, Bodéré H, Gespach C, Bataille D, Rosselin G. Functional receptors for VIP, GIP, glucagon-29 and -37 in the HGT-1 human gastric cancer cell line. *Peptides* 1986 ; 7 (suppl 1) : 121-7.
14. Maletti M, Altman JJ, Hoa DH, Carlquist M, Rosselin G. Evidence of functional gastric inhibitory polypeptide (GIP) receptors in human insulinoma : binding of synthetic human GIP 1-31 and activation of adenylate cyclase. *Diabetes* 1987 ; 36 : 1336-40.
15. Amiranoff B, Couvineau A, Vauclin-Jacques N, Laburthe M. Gastric inhibitory polypeptide receptor in hamster pancreatic beta cells. Direct cross-linking solubilization and characterization as a glycoprotein. *Eur J Biochem* 1986 ; 159 : 353-8.
16. Beck B. Gastric inhibitory polypeptide : a gut hormone with anabolic functions. *J Mol Endocrinol* 1989 ; 2 : 169-74.
17. Millington DS, Golder MP, Cowley T, London D, Roberts H, Butt WR, Griffiths K. *In vitro* synthesis of steroids by a feminising adrenocortical carcinoma : effect of prolactin and other protein hormones. *Acta Endocrinologica* 1976 ; 82 : 561-71.
18. Williams LT, Gore TB, Lefkowitz RJ. Ectopic b-adrenergic receptor binding sites. *J Clin Invest* 1977 ; 59 : 319-24.
19. Hirata Y, Uchihashi M, Sucoka S, Matsukura S, Fujita T. Presence of ectopic b-adrenergic receptors on human adrenocortical cortisol producing adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1981 ; 53 : 953-7.

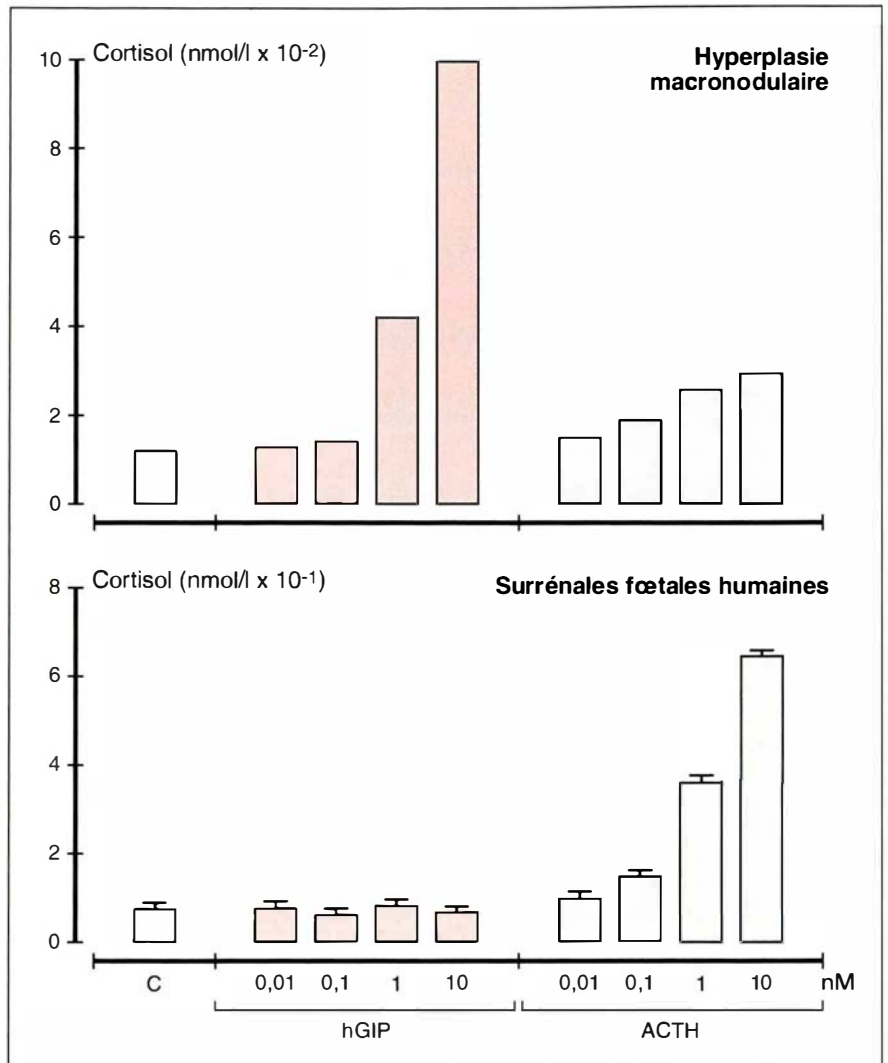


Figure 4. **Production de cortisol par des suspensions cellulaires dispersées ( $1 \times 10^6$  cellules par puits) : de surrénales de la patiente avec syndrome de Cushing dépendant du GIP (panneau du haut) ; ou de surrénales fœtales humaines normales (panneau du bas). Les cellules ont été incubées pendant 2 heures avec ou sans les concentrations indiquées d'ACTH ou de GIP.**

niveaux sériques de GIP chez cette patiente ont montré des niveaux physiologiques normaux mais une corrélation très proche et inédite entre les niveaux de GIP et de cortisol plasmatique pendant les différents tests (figures 2 et 3, p. 708 et 709). Une perfusion intraveineuse de GIP ( $0,6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) provoqua chez la patiente une augmentation du cortisol semblable à celle retrouvée après les repas, alors que cette même perfusion ne modifiait pas le niveau de cortisol chez des contrôles sains

(figure 3) ni chez une patiente atteinte d'une maladie de Cushing d'origine hypophysaire. La sécrétion de cortisol chez la patiente avec hyperplasie macronodulaire répondait, en plus du GIP, à l'administration d'ACTH 1-24, mais pas à l'insuline, ni au glucagon, à la pentagastrine, au CRF, ou à la vasopressine.

L'hypothèse que le GIP exercerait un effet direct sur la sécrétion de cortisol fut confortée par deux études : l'administration intraveineuse de 2 mCi de [ $^{125}\text{I}$ ]-GIP, qui révéla une

fixation surrénalienne bilatérale et la stimulation par le GIP et par l'ACTH de la synthèse de cortisol par les cellules surrénales, dispersées au moment de la surrénalectomie bilatérale, qui montra un effet du GIP supérieur à celui de l'ACTH (figure 4) ; de plus, la combinaison de GIP et d'ACTH produisit une stimulation de type additif. Aucune réponse ne fut notée après incubation en présence de 17 autres hormones gastro-intestinales ou neuropeptides. Le GIP, à l'opposé de l'ACTH, n'entraîne pas la synthèse de cortisol par des cellules dispersées de surrénales fœtales (figure 4), adultes humaines normales, ou d'autres patients opérés pour des adénomes surrénaux produisant du cortisol et de la testostérone, ou de l'aldostérone [8].

L'examen histologique des surrénales de cette patiente montra la présence de nodules microscopiques et macroscopiques ainsi qu'une hyperplasie internodulaire sans zones atrophiques. Puisque le GIP n'exerce pas d'effet stéroïdogénique sur le tissu surrénalien normal ou dans des adénomes non modulés par l'alimentation, la réponse anormale des surrénales de la patiente à des niveaux physiologiques normaux de GIP doit être secondaire à l'expression ectopique de récepteurs pour le GIP ; cela n'a pas encore été démontré directement par études de liaison. La captation diffuse du [<sup>125</sup>I]-GIP *in vivo* par les surrénales et l'hyperplasie diffuse retrouvée à l'examen histologique suggèrent une expression ectopique de récepteur du GIP dans l'ensemble des cellules du cortex surrénalien. Les cellules surrénales de la patiente furent aussi ensemencées en culture primaire en présence de 10 % de sérum de veau fœtal avec ou sans addition de GIP (1 nM) et/ou d'ACTH (1 nM). La sécrétion du cortisol fut maintenue *in vitro*, mais la réponse au GIP fut pratiquement abolie après 72 heures en culture, alors que la réponse à l'ACTH était conservée (figure 5). Le sevrage du GIP et de l'ACTH du milieu pendant 48 heures augmenta légèrement la réponse du cortisol à la réexposition au GIP et diminua la réponse à l'ACTH, suggérant un effet probable de désensibilisation des récepteurs du GIP. Aucune croissance cellulaire ne fut notée avec ou

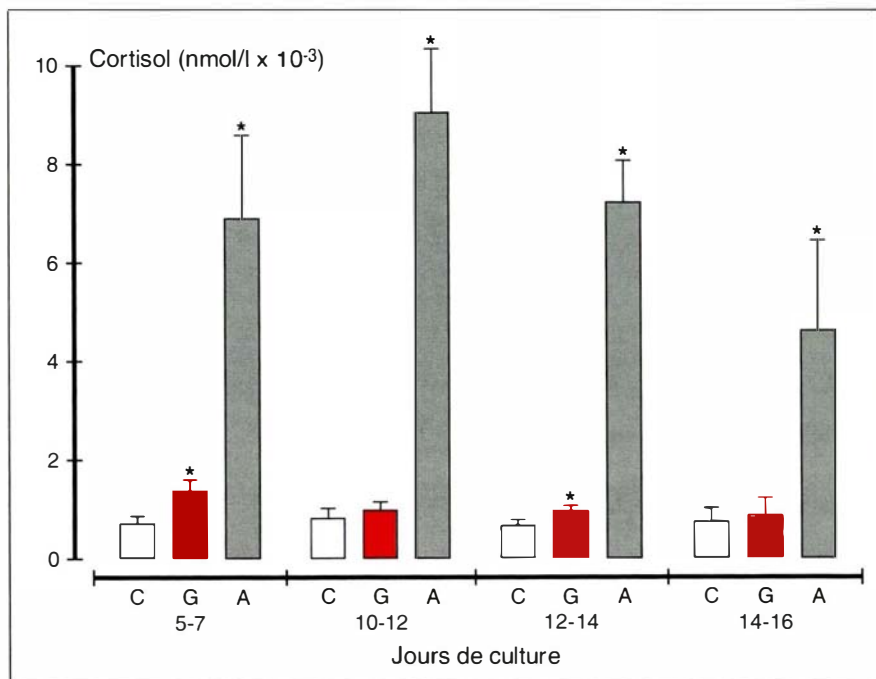


Figure 5. **Production de cortisol dans une culture primaire de cellules surrénales d'une malade avec syndrome de Cushing dépendant du GIP.** Les cellules étaient renourries tous les trois jours avec du DMEM additionné de 10 % de sérum de veau fœtal, en l'absence (contrôle : C) ou en présence de GIP, 1 nM (G), ou d'ACTH 1-24, 1 nM (A). Le cortisol fut mesuré dans le surnageant collecté des puits (triplicata, moyenne et écart-type) après le nombre indiqué de jours de culture primaire. \* :  $p < 0,05$ .

sans GIP et ACTH, et les cellules se sont détachées après trois semaines de culture primaire. Il est probable que les conditions de culture ne permettaient pas de maintenir la différenciation et la croissance cellulaire *in vitro*. La revue d'autres cas publiés d'hyperplasie macronodulaire non dépendante de l'ACTH n'a pas révélé d'autres cas de patients avec cycle inversé du cortisol [8] ; il faut noter que ces rapports n'incluaient pas d'examen du cortisol en période postprandiale. Olsen *et al.* [10] ont rapporté le cas d'une patiente atteinte d'un syndrome de Cushing secondaire à un adénome surrénalien présentant elle aussi un cycle inversé du cortisol ; mais la corrélation avec les repas n'a pas été étudiée. Le rapport préliminaire de notre observation de Cushing dépendant du GIP [11] a incité l'équipe du professeur Mahoudeau, à Caen, à réexaminer une patiente française de 49 ans qui avait un syndrome de Cushing évoluant

depuis cinq ans et une hyperplasie macronodulaire bilatérale ; un cycle nyctéméral inversé du cortisol et des niveaux indétectables d'ACTH ont été notés [12]. L'étude de l'effet du jeûne et de différents repas révéla ici aussi un hypercorticisme lié à l'alimentation et une corrélation très forte ( $p < 0,001$ ) entre les niveaux (physiologiques) de GIP et la stimulation (anormale) postprandiale de la synthèse de cortisol. La réponse aux différents repas et à la perfusion de GIP *in vivo* était tout à fait superposable à celle rapportée dans l'observation de Lacroix *et al.* [8]. Cette équipe tira avantage de la suppression du GIP endogène par l'octréotide et traita la patiente avec l'octréotide par voie sous-cutanée pendant quatre mois ; il fut nécessaire d'augmenter progressivement la dose à 100 µg trois fois par jour pour normaliser la cortisolurie et entraîner une réponse clinique satisfaisante. Un échappement progressif de l'efficacité

## RÉFÉRENCES

20. Katz MS, Kelly TM, Dax EM, Pineyro MA, Partilla JS, Gregerman RI. Ectopic  $\beta$ -adrenergic receptors coupled to adenylate cyclase in human adrenocortical carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1985 ; 60 : 900-9.
21. Matsukura S, Kakita T, Sucoka S, *et al.* Multiple hormone receptors in the adenylate cyclase of human adrenocortical tumors. *Cancer Res* 1980 ; 40 : 3768-71.
22. Leinonen P, Ranta T, Siegberg R, Pelkonen R, Heikkilä T, Kahri A. Testosterone-secreting virilizing adrenal adenoma with human chorionic gonadotrophin receptors and 21-hydroxylase deficiency. *Clin Endocrinol* 1991 ; 34 : 31-5.
23. Olson MF, Tsao J, Pon DJ, Schimmer BP. Agonist-induced desensitization of adenyl cyclase in Y1 adrenocortical tumor cells. *Endocrine Res* 1991 ; 17 : 19-42.
24. Schorr I, Hinshaw HT, Cooper MA, Mahaffee D, Ney RL. Adenyl cyclase hormone responses of certain human endocrine tumors. *J Clin Endocrinol* 1972 ; 34 : 447-51.
25. Matsukura S, Kakita T, Hirata Y, *et al.* Adenylate cyclase of GH and ACTH producing tumors of human : activation by non-specific hormones and other bioactive substances. *J Clin Endocrinol Metab* 1977 ; 44 : 392-7.
26. Matsukura S, Kakita T, Fukase M, Fujita T. Adenylate cyclase of a human medullary thyroid carcinoma. *Experientia* 1981 ; 37 : 523-4.
27. Birnbaumer L, Abramowitz J, Brown AM. Receptor-effector coupling by G proteins. *Biochim Biophys Acta* 1990 ; 1031 : 163-224.
28. Downward J, Yarden Y, Mayes E, *et al.* Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* 1984 ; 307 : 521-7.
29. Sherr CJ, Rettenmier CW, Sacca R, Roussel MF, Look AT, Stanley ER. The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor, CSF-1. *Cell* 1985 ; 41 : 665-76.

Tableau I  
RÉCEPTEURS HORMONAUX ECTOPIQUES  
DES TUMEURS CORTICOSURRÉNALIENNES

Tissus	Récepteurs ectopiques	Auteurs
Cancers surrénaliens du rat 494	Stimulation AC* par adrénaline, TSH, LH, FSH	Schorr <i>et al.</i> , 1971 [5]
	Présence de récepteurs $\beta$ -adrénergiques	Williams <i>et al.</i> 1977 [18]
Adénome et cancer surrénaliens humains	Stimulation AC par TSH	Hinshaw et Ney 1974 [6]
Cancers surrénaliens humains	Stimulation AC et stéroïdogenèse par GH, LH, prolactine	Millington <i>et al.</i> 1976 [17]
Adénomes humains produisant du cortisol	Stimulation AC par noradrénaline, adrénaline, TSH et LH	Matsukura <i>et al.</i> 1980 [21]
Hyperplasie nodulaire primaire produisant du cortisol	Stimulation AC par glucagon	Matsukura <i>et al.</i> 1980 [21]
Adénomes humains produisant du cortisol	Récepteurs $\beta$ -adrénergiques	Hirata <i>et al.</i> 1981 [19]
Cancers surrénaliens humains	Récepteurs $\beta$ -adrénergiques	Katz <i>et al.</i> 1985 [20]
Adénome surrénalien ; Cushing cyclique lié à l'alimentation	Stimulation AC par vasopressine	Hamet <i>et al.</i> 1987 [7]
Adénome surrénalien virilissant humain	Récepteurs LH/HCG. Stimulation des androgènes <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> par HCG	Leinonen <i>et al.</i> 1991 [22]
Hyperplasie macronodulaire bilatérale et Cushing dépendant du GIP	Stéroïdogenèse induite par le GIP	Lacroix <i>et al.</i> 1992 [8] ; Reznik <i>et al.</i> 1992 [12]

\* AC : adénylate cyclase.

du traitement nécessita finalement une surrénalectomie bilatérale (J. Mahoudeau, communication personnelle).

Le GIP est un peptide de 42 acides aminés qui fait partie de la famille du glucagon. Il est synthétisé par les cellules K du duodénum, du jéjunum et de l'iléon [9]. Son rôle physiologique principal est de stimuler la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques ; il doit son nom à son activité inhibitrice sur la sécrétion gastrique (à des concentrations plus pharmacologiques que physiologiques toutefois). Le récepteur membranaire du GIP a été étudié principalement dans un insulinome transplantable chez le hamster, dans une lignée cellulaire qui en dérive, ainsi que dans des insulinomes et une lignée de can-

cer gastrique humains [13-15] ; ces études initiales suggèrent que le récepteur est une glycoprotéine de 59 kDa couplée à l'AC, mais il n'a pas encore été mieux caractérisé et son ADNc n'a pas été cloné. On ne l'a pas retrouvé dans les cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques ni dans les cellules gastriques normales, mais les effets du GIP *in vitro* sur ces cellules ainsi que sur de nombreux autres types cellulaires (adipocytes, hépatocytes, myocytes, entérocytes et neurones) [16] suggèrent la présence de récepteurs dans ces tissus. L'absence de stéroïdogenèse après stimulation des cellules surrénaliennes fœtales ou adultes normales par le GIP [8] laisse à penser que le récepteur n'est pas exprimé dans ce tissu ou qu'il n'est pas couplé normalement à la

stéroïdogénèse. Dans les trois cas rapportés par Hamet *et al.* [7], Lacroix *et al.* [8, 11] et Reznik *et al.* [12], le syndrome de Cushing modulé par l'alimentation constitue donc une expression clinique tout à fait particulière de récepteurs hormonaux ectopiques dans la surrénale.

### Récepteurs ectopiques et tumeurs endocriniennes

Le rôle de l'expression ectopique de récepteurs hormonaux dans l'étiologie de tumeurs endocriniennes fonctionnelles fut envisagé initialement par Schorr, Ney *et al.* Ces auteurs rapportaient, dans un cancer surrénalien transplantable du rat, une réponse aberrante de l'AC à la stimulation par de nombreuses hormones (adrénaline, noradrénaline, TSH, la sous-unité b de LH et FSH) en plus de l'ACTH (Tableau 1) [5]. Dans quatre autres tumeurs corticosurréaliennes humaines (adénome et cancer), l'activité de l'AC était stimulée par la TSH en plus de l'ACTH, et non pas par la LH, l'adrénaline, et le glucagon [6]. Une réponse de l'AC avec stimulation de la stéroïdogénèse *in vitro* en réponse à LH, GH et prolactine, en plus de l'ACTH, a été mise en évidence dans un cancer surrénalien produisant œstrogènes et androgènes [17]. La présence de récepteurs  $\beta$ -adrénergiques fut démontrée par des études de liaison dans le cancer surrénalien du rat 494 [18], dans deux sur trois adénomes humains produisant du cortisol [19], dans trois sur six cancers surréaliens humains [20], mais pas dans une tumeur sécrétant de l'aldostérone ni dans la surrénale normale [19]. Dans une autre étude de cas de Cushing d'origine surrénalienne, une stimulation de l'AC par l'adrénaline est trouvée dans trois adénomes sur cinq, par la noradrénaline dans deux, par la TSH dans un et par la LH dans un : une réponse au glucagon est observée dans un cas d'hyperplasie nodulaire primaire [21]. Dans un adénome surrénalien virilisant, la présence de récepteur LH/HCG a été démontrée *in vitro* et *in vivo* par études de liaison et par la mise en évidence de la synthèse de testostérone en réponse à la stimulation par l'HCG [22]. Récemment enfin,

Olson *et al.* ont transfecté le récepteur  $\beta_2$ -adrénergique murin dans des cellules de la lignée de tumeur corticosurrénalienne Y-1 de souris et montré l'activation de l'AC et la stéroïdogénèse en réponse à l'addition d'agonistes  $\beta$ -adrénergiques [23].

La présence de récepteurs hormonaux ectopiques a été aussi soupçonnée dans d'autres tumeurs endocriniennes devant la réponse d'adénomes parathyroïdiens au glucagon [24], de phéochromocytomes au glucagon, à l'ACTH et à TSH [24], devant des adénomes hypophysaires sécrétant de la GH après stimulation par le TRH, le LHRH et la noradrénaline [25], devant des adénomes corticotropes hypophysaires stimulés par LHRH, noradrénaline, glucagon [25], ou devant des cancers médullaires de la thyroïde sensibles à TRH, glucagon, adrénaline et sérotonine [26]. Il n'est pas étonnant de constater que la plupart des récepteurs ectopiques rapportés dans des tumeurs corticosurréaliennes, capables de stimuler l'AC et

la stéroïdogénèse, appartiennent à la vaste famille des récepteurs couplés à Gs [27] ; en effet, la production des glucocorticoïdes, des androgènes et des œstrogènes surréaliens est contrôlée par la cascade Gs et AC normalement activée par le récepteur ACTH, mais celle-ci pourrait fort bien être couplée à tout autre récepteur capable d'interagir avec Gs. Dans ce contexte, les rapports de stimulation de l'AC par la prolactine ou la GH [17], qui ne sont pas couplés normalement à Gs, sont surprenants ; mais ces études datent de périodes où les préparations de peptides comportaient des contaminations significatives qui pourraient être responsables des réponses obtenues. Les études rapportées jusqu'à présent ont examiné un nombre limité de tumeurs corticosurréaliennes et n'ont exploré qu'un petit nombre d'hormones dont les récepteurs sont couplés aux protéines G. Des études plus vastes et systématiques sont nécessaires pour déterminer la fréquence des cas impli-

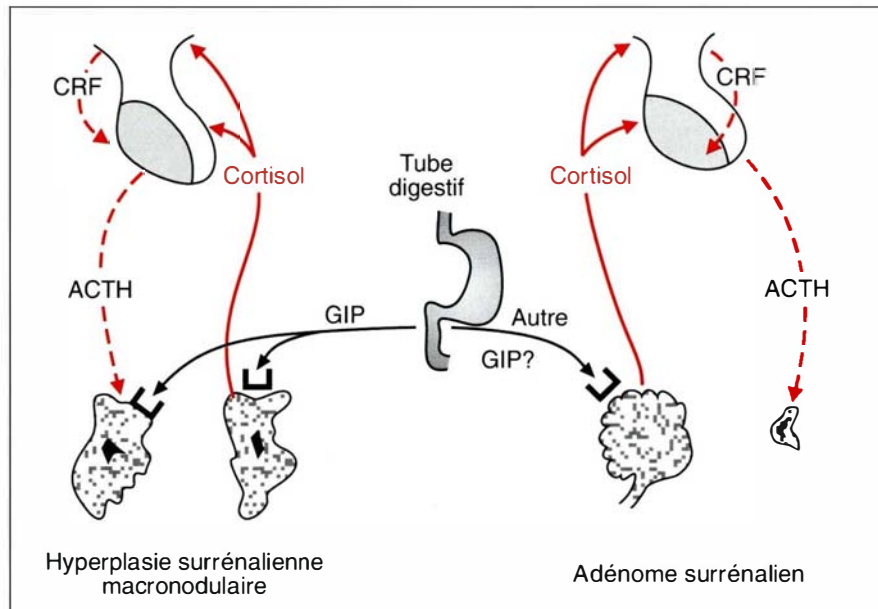


Figure 6. **Axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien dans le syndrome de Cushing induit par l'alimentation.** La ligne noire indique la production normale de GIP et d'autres hormones gastro-intestinales suivant un repas ; la ligne rouge indique la production excessive de cortisol ; la ligne pointillée indique la diminution de production de CRF et d'ACTH. L'expression ectopique d'un récepteur pour le GIP dans toutes les cellules surréaliennes entraîne une hyperplasie macronodulaire bilatérale (partie gauche) ; l'expression ectopique d'un récepteur pour le GIP ou pour une autre hormone gastro-intestinale dans une cellule surrénalienne entraîne la formation d'un adénome surrénalien clonal (partie droite). (Modifié avec permission de Lacroix et al. [8].)



## RÉFÉRENCES

30. Ledent C, Dumont JE, Vassart G, Parmentier M. Thyroid expression of an A2 adenosine receptor transgene induces thyroid hyperplasia and hyperthyroidism. *EMBO J* 1992 ; 11 : 537-42.
31. Gill GN, Ill GR, Simonian MH. Angiotensin stimulation of bovine adrenocortical cell growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977 ; 74 : 5569-73.
32. Pepe GJ, Albrecht ED. Regulation of the primate fetal adrenal cortex. *Endocrinol Rev* 1990 ; 11 : 151-76.
33. Luton JP, Krivitzky A, Thieblot Ph, Forest M, Bricaire H. Hyperplasie polyadénomateuse maligne bilatérale des surrénales partiellement hormono-dépendantes. *Ann Endocrinol* 1978 ; 39 : 1-14.
34. Anderson DC, Child DF, Stueliffe CH, Buckley CH, Davics D, Longson D. Cushing's syndrome, nodular adrenal hyperplasia and virilizing carcinoma. *Clin Endocrinol* 1978 ; 9 : 1-14.
35. Shimshi M, Ross F, Goodman A, Gabrilove JL. Virilizing adrenocortical tumor superimposed on congenital adrenocortical hyperplasia. *Am J Med* 1992 ; 93 : 338-42.
36. Lyons J, Landis CA, Harsh G, et al. Two G protein oncogenes in human endocrine tumors. *Science* 1990 ; 249 : 656-9.
37. Findlay JC, Sheeler LR, Engeland WC, Aron DC. Familial adrenocorticotropin-independent Cushing's syndrome with bilateral macronodular adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1993 ; 76 : 189-91.
38. Simpson NE, Kidd KK, Goodfellow PJ, et al. Assignment of multiple endocrine neoplasia type 2A to chromosome 10 by linkage. *Nature* 1987 ; 328 : 528-30.
39. Larsson C, Skogscid B, Oberg K, Nakamura Y, Nordenskjold M. Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature* 1988 ; 323 : 85-7.

quant un tel mécanisme. Il est enfin possible que des récepteurs ectopiques soient retrouvés aussi dans des tumeurs non fonctionnelles si l'une des étapes de la cascade protéine Gs-AC-enzymes de la stéroïdogenèse porte une mutation inhibant la sécrétion de stéroïdes.

### Un rôle des récepteurs ectopiques dans la tumorigénèse ?

Le rôle des récepteurs ectopiques dans le contrôle de la stéroïdogenèse a été clairement démontré. L'acquisition d'un récepteur ectopique couplé efficacement à la cascade de stéroïdogenèse entraîne un hypercorticisme car il échappe aux mécanismes de rétroaction normale de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (figure 6, p. 713). Le rôle des récepteurs hormonaux ectopiques dans la prolifération ou la transformation cellulaires demeure quant à lui peu exploré. On ne sait pas encore si l'expression ectopique du récepteur hormonal constitue l'événement d'initiation de la prolifération cellulaire ou un événement secondaire qui jouerait un rôle promotionnel dans la tumorigénèse. La responsabilité de l'expression de récepteurs anormaux pour l'EGF [28] ou pour le CSF-1 [29] induits par des oncogènes viraux dans la transformation cellulaire est bien établie ; mais qu'en est-il des récepteurs normaux qui seraient exprimés dans un tissu de façon ectopique. L'expérience récente de souris transgéniques chez lesquelles le récepteur A2 de l'adénosine s'exprime dans les cellules thyroïdiennes sous le contrôle du promoteur de la thyroglobuline fournit des éléments de réponse à cette question [30] ; une hyperplasie thyroïdienne diffuse et une hyperthyroïdie sévères ont été notées chez ces souris transgéniques ; initialement diffuse, l'hyperplasie devient hétérogène avec stimulation chronique, et une augmentation des mitoses, des foyers de prolifération sans organisation folliculaire apparaissent, constituant un terrain propice à la tumorigénèse. Celle-ci n'a toutefois pas été observée. La stimulation chronique par l'ACTH de cellules corticosurrénales bovines en culture n'entraîne pas de prolifération cellulaire mais plutôt un arrêt des cel-

## ABRÉVIATIONS

- AC** : adénylate cyclase  
**ACTH** : adrenocorticotropin hormone  
**CRF** : corticotrophin releasing factor  
**FSH** : folliculostimulating hormone  
**GH** : growth hormone  
**GIP** : gastric inhibitory polypeptide  
**HCG** : human chorionic gonadotrophin  
**LH** : luteinizing hormone  
**LHRH** : luteinizing hormone releasing hormone  
**TRH** : thyrotrophin releasing hormone  
**TSH** : thyroid stimulating hormone

lules au stade G1 [31] ; l'hyperplasie notée *in vivo* en présence d'excès d'ACTH (Cushing hypophysaire ou ACTH ectopique) pourrait donc impliquer une modulation par l'ACTH de l'expression de nombreux facteurs de croissance et de leurs récepteurs [32]. De rares cas de cancer surrénalien greffé sur une hyperplasie corticosurrénalienne dépendante de l'ACTH (maladie de Cushing ou hyperplasie congénitale) ont été rapportés [33-35]. Les mutations activatrices de la sous-unité  $\alpha_{12}$  de G<sub>s</sub> décrites récemment dans le syndrome de McCune-Albright induisent une activation constitutive de la cascade avec hyperplasie nodulaire et hypercorticisme surrénalien, mais il n'a pas été rapporté de transformation cellulaire avec métastases dans ce syndrome [4]. Par ailleurs, des mutations activatrices de la sous-unité  $\alpha_{12}$  de G<sub>s</sub> ont été retrouvées dans des adénomes et des cancers corticosurrénaux fonctionnels [36]. La transfection de cet oncogène potentiel nommé *gip2* entraîne des phénotypes de transformation cellulaire incomplets. L'acquisition d'une mutation somatique induisant l'expression d'un récepteur ectopique pourrait être responsable de l'apparition d'un adénome bénin unique d'origine clonale tel que retrouvé chez notre malade avec un adénome modulé par l'alimentation [7] (figure 6). La présence de mutations

additionnelles serait nécessaire à la cancérisation. La présence d'hyperplasie macronodulaire surrénalienne bilatérale affectant toutes les cellules suggère que la mutation initiale aurait été transmise génétiquement, ou serait survenue précocement pendant l'embryogenèse, entraînant ainsi l'expression ectopique d'un récepteur dans toutes les cellules corticosurrénales (*figure 6*). Findlay *et al.* ont rapporté l'observation d'une hyperplasie macronodulaire surrénalienne avec hypercorticisme chez une mère et sa fille [37]. Il n'a pas été retrouvé d'atteinte familiale chez les deux patients avec Cushing dépendant du GIP [8, 12]. Des syndromes génétiques tels que ceux localisés au chromosome 10 dans le syndrome d'endocrinopathie multiple de type 2 (MEN-2) ou sur le chromosome 11 dans le syndrome d'endocrinopathie multiple de type 1 (MEN-1), peuvent demander plusieurs années avant d'entraîner une hyperplasie diffuse, puis une néoplasie des cellules C thyroïdiennes, médullosurrénales ou de la parathyroïde [38, 39]. La question fondamentale qui est posée par l'observation de la présence de récepteurs ectopiques concerne le contrôle de l'expression spécifique de tissu des récepteurs hormonaux. On ne pourra répondre à cette question qu'après avoir étudié la structure des gènes des récepteurs impliqués, domaine de recherche qui a progressé considérablement au cours des dernières années. La connaissance des gènes régulateurs et des facteurs actifs en *cis* et *trans* influençant la transcription de ces récepteurs nous permettra d'élucider les mécanismes moléculaires de la réponse aberrante d'un nombre significatif de tumeurs endocriniennes ou de toute cellule dont la différenciation et la croissance sont réglées par des récepteurs hormonaux membranaires ■

#### Remerciements

Les auteurs remercient John Dupré, Pierre Poitras, Hélène Fournier, Jean Garon, Dominique Garrel, Francis Bayard, Raymond Taillefer et Richard J. Flanagan pour leurs contributions dans cette investigation ainsi que Susanne Bordeleau-Chénier pour son assistance dans la préparation de ce manuscrit.

## Summary

### GIP-dependent Cushing's syndrome : clinical expression of an ectopic receptor

The pathophysiology of non-ACTH-dependent adrenal nodular hyperplasia and tumors resulting in Cushing's syndrome is still largely unknown. Previous *in vitro* studies have demonstrated the presence of ectopic (mostly G-protein-coupled) receptors in such tumors, suggesting that they may not be functionally autonomous. Recently, two groups, including our own, studied three patients with Cushing's syndrome of adrenal origin in whom cortisol production was food-dependent. In two such patients presenting macronodular adrenal hyperplasia, *in vivo* and *in vitro* studies demonstrated that the syndrome was secondary to an aberrant adrenal responsiveness to the normal postprandial fluctuations of GIP (gastric inhibitory polypeptide) levels. These patients constitute a clinical expression of the ectopic presence of GIP receptor in adrenocortical cells. It remains to be determined what are the frequency, diversity, molecular mechanisms, and pathophysiological role of the ectopic expression of membrane receptors in tumors originating from endocrine cells or from cells modulated by hormones.

#### TIRÉS A PART

A. Lacroix.