

## Tumeurs endocrines à sécrétion peptidique

Les réunions annuelles Henri-Pierre Klotz offrent une interface où fondamentalistes et cliniciens échangent leurs résultats les plus récents sur un thème choisi d'endocrinologie. Il s'agissait cette année des tumeurs endocrines à sécrétion peptidique (Paris, 25 et 26 mai 1989).

Claude Tougard (Collège de France, Paris) a abordé les mécanismes du transit intracellulaire des protéines sécrétées et posé le problème de leur tri : celui-ci s'opère au niveau du trans-Golgi, mais on ignore toujours (hormis pour les enzymes lysosomiales) la nature du signal qui engage ce type de protéines dans leur voie de sécrétion. La fonction et les mouvements des différents organites impliqués sont étudiés avec des anticorps monoclonaux contre des antigènes spécifiques de chacun d'eux.

Le thème des sécrétogranines a été présenté par Wieland Huttner (EMBL, Heidelberg, RFA). Ces protéines sont un composant normal et spécifique de la matrice du granule de sécrétion, et constituent à ce titre un marqueur biochimique de la différenciation neuro-endocrine. Elles joueraient un rôle central dans le transit et le tri des protéines hormonales en les divertissant vers une voie de sécrétion dite « contrôlée » faisant intervenir les granules de sécrétion, par opposition à une voie dite « constitutive » n'utilisant que les vésicules sécrétoires. La transfection d'une cellule neuro-endocrine médullo-surrénalienne (PC<sub>12</sub>) avec des ADNc codant pour des IgGs « quelconques » entraîne leur sécrétion par la voie constitutive. Quand l'IgG transfectée est un anticorps anti-sécrétogranine, celle-ci est alors sécrétée par la voie contrôlée. *In vitro*, la sécrétogranine II forme des agrégats en présence de calcium, selon une réaction dépendante du pH (maximale en milieu acide). Des

récepteurs pour ces agrégats au niveau des membranes granulaires seraient le signal qui dirigerait *in fine* les protéines hormonales vers les granules de sécrétion, et donc vers la voie contrôlée.

Betty Eipper (John's Hopkins, Baltimore, MD, USA) a présenté les derniers résultats de son groupe sur la PAM (peptidyl glycine  $\alpha$ -amidating monooxygenase). Cette enzyme est responsable de l'amidation COOH-terminale (X-NH<sub>2</sub>) des neuropeptides dont la séquence à l'intérieur de leurs précurseurs reproduit le consensus X-Gly-B-B. Une majorité de neuropeptides subissent cette amidation, étape généralement indispensable à l'acquisition d'une activité biologique maximale. Plusieurs ADNc de PAM ont été clonés à partir du lobe intermédiaire d'hypophyse de bœuf, de la peau de grenouille (organe particulièrement riche en TRH [*TSH\* releasing hormone*], neuropeptide amidé!), et d'oreillettes de cœur de rat. Différentes formes d'ARN résultent de réactions d'épissages alternatifs. Il existe une grande homologie de séquence entre les protéines de ces trois espèces. L'organe le plus riche en PAM est l'oreillette cardiaque. Le seul neuropeptide connu dans ce site est l'ANF (*atrial natriuretic factor*) qui précisément... n'est pas amidé ! Le rôle de la PAM dans certains tissus reste donc énigmatique, d'autant que des études fines de détection montrent qu'elle s'exprime de façon très ubiquitaire, y compris dans des lignées cellulaires non endocrines. S'agit-il, encore, de l'expression illégitime d'un gène ! ou bien la PAM a-t-elle d'autres fonctions plus importantes ? Dans cette hypothèse, des expé-

riences récentes montreraient que la transfection des cellules AtT-20, avec des ARN anti-sens de la PAM freine la croissance cellulaire ! Autre phénomène intéressant : la transcription de la PAM est contrôlée de façon négative dans les cellules corticotropes anté-hypophysaires (AtT-20) et de façon positive dans les cellules atriales du rat... par les mêmes glucocorticoïdes !

Bruce Weintraub (NIH, Bethesda, MD, USA) a montré que certaines tumeurs humaines à TSH sécrétaient des formes super-glycosylées ayant une activité biologique renforcée *in vitro* et *in vivo*. Cela explique certaines dissociations bio-immunologiques chez des patients dont l'immunoréactivité TSH n'est pas nettement augmentée et qui présentent — de façon apparemment incompréhensible — des manifestations cliniques d'hyperthyroïdie. En réalité, d'une tumeur à l'autre, une très grande diversité existe dans la qualité et l'importance des altérations moléculaires de la TSH.

Pierre Corvol (INSERM U. 36, Paris) a rappelé que la rénine était un autre exemple de molécule purifiée à partir d'une tumeur humaine. Il s'agit d'une enzyme, mais ses modes de synthèse et de sécrétion l'apparentent à une hormone peptidique classique. On décrit deux voies de sécrétion, contrôlée et constitutive, à partir des cellules de l'appareil juxtaglomérulaire. En culture, la voie contrôlée se tarit progressivement pour ne laisser persister que la voie constitutive. Il serait intéressant d'étudier en parallèle l'évolution des sécrétogranines... Le système rénine est un merveilleux modèle où peut s'exercer toute l'habileté d'un concepteur d'IRMA (*immuno radio metric assay*) : 90 % de la rénine circulante est sous forme « inactive » correspondant à la pro-rénine, 10 % sous forme « active »

\* *Thyroid stimulating hormone.*

correspondant à la rénine elle-même. Cette dernière forme est maintenant mesurée directement de façon spécifique par IRMA.

En matière d'IRMA, une démonstration impressionnante a été effectuée par Philip Lowry (Reading University, Reading, GB); sa cible, la pro-opiomélanocortine. Ses outils, une batterie d'anticorps polyclonaux — les meilleurs — purifiés par immuno-affinité. Par des combinaisons bien choisies, il réalise une série de *sandwiches* adaptés de façon spécifique à chaque fragment de la pro-opiomélanocortine. Mais l'IRMA a également ses écueils: sa spécificité — quasi parfaite — fait qu'il laisse échapper une forme moléculaire qui ne serait pas — elle — parfaite... comme dans les syndromes de sécrétion ectopique d'ACTH. Plus les outils deviennent sophistiqués, meilleurs doivent être les connaissances théoriques de leurs utilisateurs!

C'est également l'utilisation de l'IRMA qui a permis le premier dosage efficace du CRF (*corticotropin releasing factor*) dans le plasma. Plus de 90 % du CRF plasmatique est fixé à une protéine de liaison. Ce fait — inattendu — explique *a posteriori* l'échec des approches classiques d'extraction plasmatique! Il rend compte aussi de l'effet tampon exercé par le plasma sur l'activité biologique du CRF: lors de la grossesse par exemple, alors que les taux plasmatiques de CRF atteignent — normalement — des valeurs faramineuses (multipliées par 100), on n'observe jamais de syndrome de Cushing. Bien entendu le clonage de cette protéine de liaison est en cours.

Claudine Junien (INSERM U. 73, Paris) a montré que la région chromosomique 11p15.5 subit une perte d'hétérozygotie dans les corticosurrénales malins de forme familiale. Cette région est le siège d'un réarrangement constitutionnel et a donc toutes les chances d'abriter un gène prédisposant au corticosurrénales. Des résultats prometteurs (en cours de publication dans le *New England Journal of Medicine*) ont été obtenus par le groupe de Gilbert Lenoir (CIRC, Lyon) sur le diagnostic génétique des formes familiales du cancer

médullaire de la thyroïde (syndrome de Sipple ou *multiple endocrine neoplasia* type II). Par des études de liaison, ils ont localisé sur le chromosome 10 les séquences d'ADN responsables de l'affection. Une sonde d'ADN (IRBP: *interstitial retinol binding protein*) permet — dans certaines familles informatives — de faire un dépistage avec une probabilité supérieure à 95 %, évitant ainsi l'écueil et la source d'angoisse renouvelée que représentait l'exploration classique par des tests répétitifs, chaque année, à la pentagastrine. Il s'agit d'un remarquable exemple qui illustre bien quelles peuvent être les retombées d'une collaboration entre cliniciens (Claude Calmettes, Paris, responsable du groupe d'étude des tumeurs à calcitonine) et fondamentalistes.

Un autre aspect de la tumorigenèse endocrinienne a été présenté par Gérard Willems (Vrije Universiteit, Bruxelles): l'hypergastrinémie chronique entraîne une hyperplasie des cellules endocrines du fundus gastrique et secondairement des tumeurs carcinoïdes. Ces faits expérimentaux éclairent une observation clinique ancienne: la fréquence des tumeurs carcinoïdes gastriques dans l'anémie de Biermer, qu'accompagne précisément une hypergastrinémie chronique. Ils posent la question des interventions pharmacologiques (oméprazole) qui induisent une hypergastrinémie réactionnelle. Ils nous interpellent enfin, d'une façon plus générale, sur les risques — à vrai dire peu apparents jusqu'ici — de toute thérapie rompant l'équilibre d'un système hormonal possédant naturellement une régulation par rétrocontrôle négatif, et donc susceptible d'induire un effet de riposte avec hypersécrétion chronique d'un contre-facteur de régulation. Si ce dernier possède une action trophique, doit-on craindre un risque tumoral?

Jacques Jami (INSERM U. 257, Paris) a expliqué comment l'on pouvait utiliser le promoteur d'un gène d'hormone polypeptidique pour cibler avec une parfaite spécificité l'expression d'un transgène. Avec l'antigène T de SV40 greffé en aval du promoteur de l'insuline, on

obtient des souris transgéniques qui développent d'abord une hyperplasie des cellules  $\beta$  puis, par endroits, de véritables tumeurs  $\beta$ -langerhansiennes. Cette approche reproduit de façon expérimentale un processus analogue à celui observé naturellement en pathologie humaine dans le syndrome de Sipple, puisque l'hyperplasie des cellules C y précède l'éclosion des foyers tumoraux plurifocaux qui caractérisent ces formes familiales des cancers médullaires de la thyroïde. Ces expériences montrent clairement qu'hyperplasie et néoplasie ne sont pas deux mécanismes physiopathologiques qui s'opposent, mais qu'ils peuvent coexister et surtout se succéder.

Pierre Giraud (INSERM U. 297, Marseille) a montré que le TRH — encore lui — s'exprimait dans la cellule  $\beta$ -langerhansienne de façon transitoire chez le rat nouveau-né. La PAM suit une cinétique d'expression parallèle. Il s'agit d'un nouvel exemple d'une expression transitoire et coordonnée de deux gènes codant pour un peptide et l'enzyme de maturation de son précurseur. Deux questions: à quoi sert le TRH pancréatique? doit-on s'attendre à retrouver un jour des tumeurs pancréatiques à TRH?

Joël Habener (Harvard Medical School, Boston, MA, USA) a cloné le gène codant pour une protéine impliquée dans l'action de l'AMP cyclique au niveau génique. La structure complète de cette protéine CREB (*cAMP regulatory element binding*) est établie: son domaine COOH-terminal est impliqué dans la liaison à l'ADN et comporte un de ces fameux *leucine-zipper* responsable de la dimérisation. Un autre domaine contient une « poche » possédant une série de sérines, sites de phosphorylation pour différentes enzymes dont la protéine kinase AMP cyclique dépendante. La protéine CREB interagit avec l'ADN au niveau d'un site consensus CRE constitué par un palindrome de huit paires de bases: TGACGTCA-très proche de l'élément de réponse aux esters de phorbol et au diacylglycérol: TGAGTCA. Il existe une forte homologie dans certaines parties de séquence entre la protéine CREB et

---

les produits des oncogènes cellulaires *jun* et *fos*. En réalité, il s'agit d'une nouvelle famille de facteurs transactivateurs impliqués dans les mécanismes de la différenciation et de la prolifération cellulaires.

Michel Paillard (hôpital Broussais, Paris) a montré que l'hypersécrétion de parathormone par les adénomes parathyroïdiens résultait de deux anomalies : une augmentation du seuil calcémique à partir duquel la cellule tumorale était freinée, une augmentation de la masse cellulaire du fait de la tumeur. J. Stuart Woodhead (University of Wales College of Medicine, Cardiff, GB) a convaincu tout l'auditoire que les nouvelles méthodes de dosage de la parathormone par IRMA et surtout par ICMA (*immuno chemilumino metric assay*) constituaient un progrès remarquable, non pas tellement

roïdiés que, du fait de leur sensibilité accrue, pour pénétrer dans des régions jusqu'alors inaccessibles et physiologiquement très importantes : celles des parathormones à concentration basse.

T.J. Martin (Saint Vincent's Institute of Medical Research, Melbourne, Australie) nous a offert l'histoire de la découverte de la PTH-RP (*parathyroid hormone related protein*) qui constitue l'exemple le plus récent d'une hormone purifiée à partir d'une tumeur endocrine humaine, la lignée BEN dérivée d'un cancer bronchique épidermoïde. La structure complète de cette hormone, son organisation génique sont maintenant connues ; l'activité hypercalcémiant de la PTH-RP tient à son analogie avec la parathormone puisque huit des 13 premiers acides aminés sont identiques. La PTH-RP est présente dans les kératinocytes et

dans tous les cancers bronchiques épidermoïdes. Aussi attend-on avec impatience la mise au point de son dosage radio-immunologique (ou de son IRMA) pour l'utiliser comme marqueur de ces cancers si fréquents. Il est possible que la PTH-RP soit sécrétée par tous les cancers épidermoïdes et que l'hypercalcémie n'apparaisse que lorsque les capacités des mécanismes homéostatiques de contre-régulation sont dépassées (lorsque la sécrétion de parathormone est totalement freinée). La PTH-RP est présente dans le placenta et la parathyroïde foetale. Son rôle physiologique serait de maintenir le gradient du calcium plasmatique entre le fœtus et la mère ■

**Xavier Bertagna**

Service d'endocrinologie, hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg-St-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.