

LES CHROMOGRANINES, PROTÉINES DE LA SÉCRÉTION RÉGLÉE AU RÔLE ÉNIGMATIQUE

Dominique Aunis

Au cours des années 1950, de nombreuses équipes s'intéressaient à la nature chimique de la transmission de l'influx nerveux et, en 1960, les trois neurotransmetteurs catécholaminergiques, l'adrénaline, la noradrénaline et la dopamine, avaient été identifiés. La glande médullo-surrénale était utilisée comme modèle d'étude du métabolisme des catécholamines, la glande bovine représentant une source inépuisable pour la purification des enzymes impliquées dans leur synthèse et leur catabolisme. Dans les cellules chromaffines de la médullo-surrénale, ainsi que dans les varicosités des nerfs sympathiques périphériques, des structures particulières avaient été mises en évidence par plusieurs groupes tels que ceux de Julius Axelrod aux États-Unis, Niels A. Hillarp et Ulf von Euler en Suède et de E. de Robertis en Argentine. Ces organites subcellulaires, dits granules à cœur dense du fait de leur apparence très sombre en microscopie électronique, possédaient la propriété fondamentale de stocker les neurotransmetteurs. Le groupe de Herman Blaschko, au Département de pharmacologie de l'Université d'Oxford, s'intéressait à la biochimie des granules à cœur dense des cellules chromaffines de la glande surrénale en relation avec la physiologie et la pharmacologie des catécholamines. Ce groupe fut réellement pionnier en faisant appel à l'immunologie et aux antisérums comme outils de recherche. Ainsi découvrit-il en 1965 une nouvelle protéine co-sécrétée avec les catécholamines lors de la stimulation des cellules chromaffines de la glande surrénale et présente dans les granules de

sécrétion : cette protéine dénommée chromogranine A était la première d'une large famille.

Les chromogranines ne sont pas inconnues des endocrinologues et des neurobiologistes, ni des cliniciens, en particulier des histologistes. En dehors de ces spécialistes, beaucoup de biologistes en ont entendu parler ; à la question de les définir précisément, les réponses sont pourtant généralement évasives. La raison en est la fonction de ces protéines qui reste encore une énigme à ce jour, après plus de trente ans. Quelques équipes de par le monde travaillent à élucider leurs rôles ; pour les cliniciens elles représentent des marqueurs pour le suivi de l'évolution de certains types de tumeurs et des outils pour leur caractérisation anatomo-pathologique.

Depuis la première description de la chromogranine A dans une note soumise en 1965 à *Biochemical Journal* par Peter Banks et Karen Helle [1], sont parus plus de 2 500 articles consacrés aux chromogranines. Plus récemment, le premier ouvrage qui rassemble l'ensemble des connaissances sur ces protéines est paru à la fin de l'année 2000 [2].

La famille des chromogranines et sécrétogranines est relativement simple. Cependant, comme bien souvent avant l'ère du clonage, plusieurs appellations pour des protéines inédites ont été données par divers laboratoires alors qu'il s'agissait des mêmes entités. Actuellement, il faut considérer que les granines sont des protéines des granules de la sécrétion réglée, dits à cœur dense par

ADRESSE

D. Aunis : Biologie de la communication cellulaire, Unité Inserm U. 338, Institut fédératif des neurosciences 37, 5, rue Blaise-Pascal, 67084 Strasbourg Cedex, France.

opposition aux vésicules claires de la voie de sécrétion constitutive. Ces protéines ont pour dénominateur commun leur ubiquité et leur abondance dans les systèmes endocrines, neuroendocrines et nerveux, ainsi que leur richesse intrinsèque en acides aminés acides. Deux sous-familles composent celle des granines : les chromogranines et les sécrétogranines. Les chromogranines sont au nombre de deux, la chromogranine A et la chromogranine B. Comme l'explique le premier article de ce numéro de *médecine/sciences*, elles possèdent en commun des homologies de séquence, qu'elles n'ont pas avec les autres granines. Ces autres granines sont les sécrétogranines, depuis la sécrétogranine II jusqu'à la sécrétogranine V et récemment la protéine NESP55 : ces protéines sont structurellement différentes et, à l'exception de la sécrétogranine II, leurs propriétés sont encore assez mal connues.

Les vingt années qui ont suivi la découverte de la chromogranine A ont été consacrées à étudier les propriétés de ces protéines afin d'en dégager leur fonction. Grâce aux techniques immunocytochimiques, les résultats les plus frappants pendant cette période ont été essentiellement la localisation ubiquitaire des chromogranines A et B et de la sécrétogranine II, présentes dans quasiment toutes les cellules endocrines et neuroendocrines [3]. L'existence de protéines apparentées aux chromogranines chez les vertébrés inférieurs fut une annonce importante d'Hubert Vaudry et de son groupe en 1984. Cette présence ubiquitaire dans les granules de sécrétion réglée a orienté les recherches vers un rôle dans l'organisation même de cet organelle. Cependant, si telle était la fonction de ces protéines, pourquoi les chromogranines étaient-elles absentes des granules de sécrétion des cellules exocrines, pancréatiques par exemple ?

L'espoir d'établir la fonction de la chromogranine A a reposé par la suite sur la connaissance de la séquence de la protéine obtenue par les techniques de biologie moléculaire : l'annonce fut faite en même temps et indépendamment par le groupe de

Lee Eiden (NIH, Bethesda, États-Unis) et celui de Wieland Huttner (EMBL, Heidelberg, Allemagne) en collaboration avec Jacques Mallet (Cnrs, Gif-sur-Yvette, France) en 1986 [4, 5]. La description de la séquence de la chromogranine A fut rapidement suivie de celle de la chromogranine B, puis de la sécrétogranine II. Malheureusement, les espoirs furent déçus : pour chaque entité, il n'y avait qu'un gène, codant pour une seule protéine et, de plus, les séquences en acides aminés révélèrent le caractère unique de ces protéines, à l'exception d'une identité de séquences très partielles pour les chromogranines A et B. La question de la fonction restait entièrement posée.

Ce qui apparaissait, néanmoins, au travers des séquences des chromogranines A et B ainsi que de la sécrétogranine II, c'était l'existence de nombreux sites dibasiques, lieux de coupures putatifs, confirmant ainsi les observations antérieures d'Hans Winkler et de son groupe à l'Université d'Innsbruck de mécanismes de dégradation protéolytique des protéines stockées dans les granules. C'est en 1986 que K. Tatemoto et *al.* (Karolinska Institute, Stockholm, Suède) présentèrent la première démonstration de propriétés biologiques précises pour un peptide issu de la dégradation de la chromogranine A, puisque ces auteurs décrivaient l'inhibition par la pancréastatine de la sécrétion de l'insuline des cellules β évoquée par le glucose [6]. Puis, avec Jean-Pierre Simon, nous mîmes en évidence en 1988 l'activité autocrine d'un peptide également issu de la chromogranine A vis-à-vis de la sécrétion des cellules chromaffines [7], peptide qui ne fut identifié que beaucoup plus tard. La porte était ainsi ouverte à l'idée que les chromogranines A et B, mais également la sécrétogranine II, pouvaient être des protéines précurseurs de peptides biologiquement actifs. Des activités diverses ont été trouvées pour des peptides agissant comme régulateurs de la vasoconstriction ou comme modulateurs de la sécrétion d'hormones et de neurotransmetteurs, et possédant des propriétés surprenantes dans le chimiotactisme cellulaire, ou inattendues en tant que

peptides antibactériens et antifongiques. Certains de ces peptides joueraient un rôle neuroimmunomodulateur.

L'expression de ces protéines et la régulation de celle-ci dans les tissus endocrines, neuroendocrines et nerveux sont des questions fondamentales. En effet, leur compréhension permettrait d'établir une corrélation entre le rôle de ces protéines ou de leurs peptides dérivés avec des fonctions physiologiques propres aux tissus ou aux cellules : l'expression des chromogranines est de fait sous contrôle de nombreux facteurs de transcription, dont les modes d'action restent à caractériser. Le second article de ce numéro de *médecine/sciences* fait le point des recherches sur ces aspects, et une comparaison entre vertébré inférieur et homme apporte quelque lumière sur l'importance des domaines fonctionnels des chromogranines.

Sur le front clinique, une explosion eut lieu dès 1983 lorsque l'utilisation d'anticorps monoclonaux contre les chromogranines permit de mettre en valeur l'intérêt de ces protéines comme outils diagnostiques et marqueurs pour le suivi des patients atteints de tumeurs neuroendocrines, mais non exclusivement [8]. La chromogranine A est libérée dans la circulation sanguine et, chez l'homme sain, le taux de chromogranine A circulante paraît bien réglé. Dans le cas de certains cancers, phéochromocytome, neuroblastome, cancers neuroendocrines, insulinomes, etc., ces taux circulants augmentent considérablement, faisant de la mesure de la protéine un outil clinique performant. De même les chromogranines sont des marqueurs anatomo-pathologiques pour certains types de tumeurs d'origine endocrine, comme les cancers de la prostate ou du sein. Dans le « dossier technique » de ce numéro de *médecine/sciences*, le point est fait sur la recherche dans ce domaine clinique, avec une attention particulière donnée à une nouvelle méthode de détection de la chromogranine A qui permet d'affiner au mieux les paramètres de mesure des taux circulants.

Après trente-cinq ans de recherches sur ces protéines, auxquelles ont par-

icipé et participent de nombreuses équipes de recherche fondamentale et clinique, il semblait intéressant de présenter l'état actuel des données sur les chromogranines. Les conclusions des articles qui les rapportent font état de la grande question fondamentale qui reste entièrement irrésolue, celle de la fonction des chromogranines et des peptides issus de leur dégradation. Des pistes sérieuses ont été tracées néanmoins, en particulier sur le rôle de prohormones des chromogranines A et B et de la sécrétogranine II, mais l'incertitude prévaut encore à ce stade de nos connaissances. Souhaitons que les articles qui suivent suscitent chez de nombreux lecteurs des idées nouvelles, et de là des collaborations qui permettront de faire progresser la

question toujours d'actualité : quelle fonction pour les chromogranines ? ■

RÉFÉRENCES

1. Banks P, Helle KB. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. *Biochem J* 1965 ; 97 : 40C-41C.
2. Helle KB, Aunis D. Chromogranins: from fundamental to clinics. New York : Kluwer Academic Plenum Publishing, 2000.
3. Simon JP, Aunis D. Biochemistry of the chromogranin A protein family. *Biochem J* 1989 ; 262 : 1-13.
4. Iacangelo A, Affolter H, Eiden L, Herbert E, Grimes M. Bovine chromogranin A : its sequence and the distribution of its messenger RNA in tissues. *Nature* 1986 ; 323 : 82-6.
5. Benedum U, Bauerle P, Konecki D, Frank R, Powell J, Mallet J, Huttner W. The primary structure of bovine CGA : a representative for a class of acidic secretory proteins com-

mon to a variety of peptidergic cells. *EMBO J* 1986 ; 5 : 1495-502.

6. Tatemoto K, Efendic S, Mutt V, Makk G, Feistner GJ, Barchas JD. Pancreastatin, a novel pancreatic peptide that inhibits insulin secretion. *Nature* 1986 ; 324 : 476-8.

7. Simon JP, Bader MF, Aunis D. Secretion from chromaffin cells is controlled by chromogranin A-derived peptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 1712-6.

8. Lloyd RV, Wilson BS. Specific endocrine tissue marker defined by a monoclonal antibody. *Science* 1983 ; 222 : 628-30.

TIRÉS À PART

D. Aunis.



Juin 2001

BIOTechno

4^{ème} rencontres jeunes chercheurs / Entreprises

Limoges, Lyon-Grenoble, Nancy, Nantes, Nice, et Paris.

Renseignements & Inscriptions fin Avril sur
www.biotechno.asso.fr