

L'ENDOCRINOLOGIE COMBINATOIRE

Jacques Hanoune

Dans l'histoire de l'endocrinologie qui, au sens large, peut être considérée comme la discipline des régulations, un concept simple, clair et unifiant a de temps en temps émergé. Citons par exemple la découverte de l'insuline, la notion de récepteur hormonal, ou bien le système de l'AMPc. A l'heure actuelle, c'est plutôt à un phénomène inverse que nous assistons. La littérature foisonne de facteurs régulateurs sans qu'il soit toujours possible d'apprécier leur impact physiologique réel. Le temps des modèles simples est-il passé? L'endocrinologie est-elle devenue combinatoire? Ce numéro de *médecine/sciences*, qui regroupe un certain nombre d'articles dans le domaine de l'endocrinologie, encourage à poser ces questions.

Prenons comme exemple l'action de l'adrénaline sur le taux d'AMPc. Longtemps après l'avoir découvert en 1958, E.W. Sutherland présentait encore un modèle très simple [1]: une « boîte » membranaire unique reconnaissant le signal hormonal et synthétisant l'AMPc, qu'une phosphodiesterase intracellulaire se chargeait de détruire. Il n'apparaissait pas du tout que l'adénylyl cyclase (enzyme que la simplicité des temps appelait encore adényl cyclase) devait être distinguée du récepteur. Dans un autre modèle de l'époque, on attribuait même l'effet activateur de l'adrénaline à l'existence d'un complexe avec l'ATP, dans lequel

l'hormone était supposée aider, comme un cofacteur, au positionnement correct des phosphates de l'ATP dans le site catalytique de l'enzyme grâce aux deux hydroxyles de son noyau catéchol [2]. Il a fallu attendre les années 1970 pour que récepteur et enzyme soient conceptuellement distingués, la première démonstration biochimique devant attendre la purification du récepteur β -adrénergique [3]. Puis la découverte des protéines G est venue ajouter un degré de complexité supplémentaire.

A l'heure actuelle, le système de l'AMPc apparaît tout autre, car il implique plusieurs dizaines d'entités protéiques différentes. On connaît au moins une dizaine de récepteurs adrénergiques qui interagissent positivement (β_1 , β_2 , β_3), négativement (α_2) ou indirectement par l'intermédiaire du Ca^{2+} ou de la protéine kinase C (α_1) avec l'adénylyl cyclase. Un article de D. Strosberg dans le dernier numéro de *médecine/sciences* (n° 11, vol. 9, p. 1228) fait d'ailleurs le point sur le récepteur β_3 adrénergique. L'action de l'adrénaline sur un tissu donné va donc dépendre, en premier lieu, de la stœchiométrie respective des différents types de récepteurs présents dans un tissu donné, et de leur affinité pour l'hormone circulante. C'est ainsi que l'adrénaline pourra être lipolytique ou antilipolytique, en fonction de la topographie ou du type du tissu adipeux, du sexe, de l'espèce animale, etc. A l'inverse,

ADRESSE

J. Hanoune : directeur de recherche à l'Inserm, Inserm U. 99, Hôpital Henri-Mondor, 51, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France.

l'adrénaline est glyco-génolytique dans toutes les espèces, mais emprunte la voie de l'AMPc chez le chien ou le lapin, (récepteur β_2) et celle du calcium (récepteur α_1) chez le rat. Dans le même esprit, il vient d'être montré que l'augmentation de l'AMPc des cardiomyocytes sous l'effet du glucagon était due à une activation de l'adénylyl cyclase chez le rat, mais à une inhibition de la phosphodiesterase chez le cobaye ou la grenouille [4]. Une même hormone peut donc emprunter des systèmes différents de transduction du signal.

Les protéines G sont encore plus complexes puisque l'on dénombre à l'heure actuelle 21 sous-unités α_1 (produits de 17 gènes différents), 4 sous-unités β et 7 sous-unités γ [5]. Les nombres ne sont pas définitifs. Dans quelques systèmes privilégiés où cela a été étudié, on a pu démontrer que les sous-unités β ou γ n'étaient pas équivalentes, mais que chaque récepteur pourrait, en quelque sorte, être précouplé à un système de sous-unités différent. G. Schultz vient ainsi de montrer, dans les cellules GH3, que trois effecteurs inhibaient le même canal calcique sensible à la toxine de *Bordetella pertussis*, la somatostatine par le complexe $\alpha_{12}\beta_1\gamma_3$, l'acétylcholine par le complexe $\alpha_{11}\beta_2\gamma_4$, et la galanine par le complexe $\alpha_{10}\beta_2\gamma_2$. Ainsi, chaque effecteur a son propre code composé d'une combinaison spécifique de sous-unités.

Enfin, à l'étage suivant, l'adénylyl cyclase présente au moins huit types différents [6], chacun étant le produit d'un gène propre (Haber *et al.*, soumis pour publication). Ces différents types sont tous activés par la forskoline ou la sous-unité α_s , mais le complexe calcium-calmoduline active les types I et III; le calcium inhibe les types V et VI; la phosphorylation sous l'effet de la protéine kinase C active le type II. Le phénomène le plus intéressant est le rôle ambigu des sous-unités $\beta\gamma$ qui activent les types II et IV et inhibent directement le type I [7]. Ces résultats inattendus pourraient rendre compte de constatations surprenantes comme la stimulation de

l'adénylyl cyclase par des hormones qui activent non pas la sous-unité α_s , mais les sous-unités α_0 ou α_i . Dans ces cas, la stimulation est indirecte, liée à une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire [8] ou à une libération de $\beta\gamma$ à partir de leur complexe avec α_0 ou α_i [9]. Dès lors, la spécificité de la réponse physiologique d'un tissu à une hormone n'apparaît plus étroitement liée au seul récepteur, mais aussi bien aux différentes cascades possibles d'amplification ultérieure et à leur interaction, et en particulier la nature et la stoechiométrie, propres à chaque cellule, des protéines G et des systèmes effecteurs. Ces mêmes notions s'appliquent pour la variation de la sensibilité d'une cellule donnée à une hormone au cours du développement. De plus, l'AMPc, une fois formée, est dégradée par la phosphodiesterase dont il existe au moins 25 formes, classées en 5 familles comme le décrivent B. Muller *et al.* dans le présent numéro (p. 1335), chaque famille présentant une régulation propre. Dès lors, comme le dit C. de Rouffignac (p. 1367 de ce numéro), la régulation plurihormonale d'une fonction complexe, comme la fonction rénale par exemple, ne peut plus s'expliquer par des effets simples et univoques de quelques facteurs hormonaux, mais résulte forcément d'une combinatoire d'événements.

L'AMPc, outre son action classique sur l'état de phosphorylation d'une large population d'enzymes par la protéine kinase A, agit aussi au niveau du génome. Là, il met en jeu, comme le dit Habener, une « corne d'abondance » de facteurs transcriptionnels [10]. Le facteur le plus connu, CREB, voit son activité augmentée par phosphorylation sous l'effet de la PKA. Il recouvre en fait toute une famille de protéines dont certains variants, comme CREM, agissent comme inhibiteur dominant négatif de CREB (*m/s* n° 5, vol. 7, p. 506). Le gène CREM lui-même a fait l'objet de nombreux travaux et se trouve impliqué dans le contrôle de la spermatogenèse et du rythme circadien (*m/s* n° 11, vol. 9, p. 1253). La propriété d'hétérodimérisation

entre facteurs transcriptionnels avec ses lois propres de légitimité fournit un répertoire riche de possibilités. D'ailleurs, la frontière de la notion de légitimité doit être reculée tous les jours. Ne voit-on pas la protéine CREB, activable par la protéine kinase A et l'AMPc former un hétérodimère avec la protéine Jun activable par la protéine kinase C et les esters de phorbol?

On retrouve ainsi au niveau génique la même complexité combinatoire des mécanismes de régulation que celle rencontrée au niveau membranaire. L'étude des grandes voies de la glycolyse et de la gluconéogenèse a conduit depuis 30 ans au concept simple que les enzymes clés impliquées dans ces voies pouvaient être classées en deux groupes, l'un responsable de la voie de synthèse du glucose à partir des composés à trois atomes de carbone, induit par les glucocorticoïdes, l'AMPc et inhibé par l'insuline, l'autre responsable de la voie glycolytique, induit par l'insuline et réprimé par l'AMPc. On a même pu émettre l'hypothèse qu'un *master gene* ou *master switch* pouvait commander chaque famille. L'étude des promoteurs de chacune de ces enzymes conduit à des conclusions beaucoup plus désabusées: il n'existe pas de « promoteur consensus » pour chaque voie métabolique. Chaque promoteur possède son complément propre de GRE (*glucose response element*), CRE (*cyclic AMP response element*), etc., qu'il possède ou non une TATA box, et semble dépendre d'une combinaison originale de facteurs régulateurs interagissant directement ou indirectement avec l'ADN. A ce jour, on n'est pas encore en mesure d'identifier un IRE (*insulin response element*) universel et l'interaction positive ou négative entre les différents éléments de régulation apparaît d'autant plus complexe que les facteurs spécifiques des tissus se surajoutent aux facteurs transcriptionnels sensibles aux hormones. F. Jacob [11] a proposé pour ces complexes protéiques variables la terminologie d'agrégat (contraction d'agrégat et de régulation), chaque système de régulation génique sem-

blant avoir trouvé une combinaison propre de facteurs de contrôle, combinaison fixée par l'évolution dans un processus que le même auteur a joliment résumé sous le nom de « bricolage ». Au niveau des régulations membranaires, les interactions imprévisibles entre les différentes voies de signalisation sont résumées par le vocable moins heureux de *cross talk* [12]. Dans les deux cas, comment détecter ce qui est déterminant, redondant ou même accessoire ? On peut espérer qu'une analyse toujours plus détaillée fera apparaître des invariants mettant sur la piste de nouveaux modèles. La voie de signalisation de *ras* en est un exemple éclatant [13] (voir aussi *m/s n° 5, vol. 8, p. 471*). L'utilisation de systèmes « antisens », sur des cellules en culture ou chez des animaux transgéniques, la mise en œuvre, lourde, de *knock-out* de gènes, pourront permettre de progresser dans l'élucidation des hiérarchies de contrôle. Mais n'oublions pas que les modèles pathologiques, chez l'homme ou l'animal, ont le mérite de souligner brutalement les voies majeures de régulation. On peut noter un exemple récent, celui de l'adénome hyperfonctionnel ou toxique de la thyroïde. Sur le plan biochimique, il apparaît lié à un hyperfonctionnement du système adénylate cyclasique. On connaît maintenant les anomalies moléculaires qui peuvent l'expliquer dans certains cas : il s'agit d'une activation permanente, par mutation ponctuelle, de la protéine $G\alpha$ [14] ou $G\beta$ [15] ou encore du récepteur de la TSH, comme vient de le montrer brillamment le groupe de G. Vassart ([16] et *p. 1421 de ce numéro*). Ces anomalies n'expliquent pas tous les cas cliniques, mais quelle meilleure démonstration du rôle majeur d'une voie de régulation ? ■

RÉFÉRENCES

1. Sutherland EW. On the biological role of cyclic AMP. *J Am Med Ass* 1970; 214: 1281-8.
2. Belleau B. Stereochemistry of adrenergic receptors: newer concepts on the molecular mechanism of action of catecholamines and antiadrenergic drugs at the receptor level. *Ann NY Acad Sci* 1967; 139: 580-605.
3. Vauquelin G, Geynet P, Hanoune J, Strosberg D. Isolation of adenylate cyclase-free, β adrenergic receptor from turkey erythrocyte membranes by affinity chromatography. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 3710-4.
4. Brechler V, Pavoine C, Hanf R, Garbarz E, Fischmeister R, Pecker F. Inhibition by glucagon of the cGMP-inhibited low-Km cAMP phosphodiesterase in heart is mediated by a pertussis toxin-sensitive G-protein. *J Biol Chem* 1992; 267: 15496-501.
5. Hepler JR, Gilman AG. G proteins. *Trends Biochem Sci* 1992; 17: 383-7.
6. Iyengar R. Molecular and functional diversity of mammalian Gs-stimulated adenylyl cyclases. *FASEB J* 1993; 7: 768-75.
7. Clapham DE, Neer EJ. New roles for G-protein $\beta\gamma$ dimers in transmembrane signaling. *Nature* 1993; 365: 403-6.
8. Chetkovich DM, Gray R, Johnston D, Sweatt JD. N-methyl-D-aspartate receptor activation increases cAMP levels and voltage gated Ca^{++} channel activity in area CA1 of hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6467-71.
9. Baugold J. Muscarinic receptor-mediated stimulation of adenylyl cyclase. *Trends Physiol Sci* 1992; 13: 339-40.
10. Habener JF. Cyclic AMP response element binding proteins: a cornucopia of transcription factors. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 1087-94.
11. Jacob F. Du répresseur à l'agrégulat. *CR Acad Sci Paris Ser III* 1993; 316: 547-9.
12. Houslay MD. « Crosstalk »: a pivotal role for protein kinase C in modulating relationships between signal transduction pathways. *Eur J Biochem FEBS* 1991; 195: 927.
13. Egan SE, Weinberg RA. The pathway to signal achievement. *Nature* 1993; 365: 781-3.
14. O'Sullivan C, Barton CM, Staddon SL, Brown CI, Lemoine NR. Activating point mutations of the *gsp* oncogene in human thyroid adenomas. *Mol Carcinogenesis* 1991; 4: 345-9.
15. Selzer E, Willing A, Schiferer A, Hermann M, Grubeck-Lobenstein, Freissmuth M. Stimulation of human thyroid growth via the inhibitory guanine nucleotide binding (G) protein G_i : constitutive expression of G-protein a subunit $G_{i\alpha-1}$ in autonomous adenoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1609-13.
16. Parma J, Duprez L, Van Sande J, Cochaux P, Gervy C, Mockel J, Dumont J, Vassart G. Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas. *Nature* 1993; 365: 649-51.

TIRÉS A PART

J. Hanoune.

m/s n° 12 vol. 9, décembre 93