

## **M**étabolisme *in vitro* et *in vivo* du peptide hémorégulateur N-Acétyl-Ser-Asp-Lys-Pro par l'enzyme de conversion de l'angiotensine I

L'hématopoïèse est sous le contrôle de facteurs stimulants et inhibants qui jouent un rôle dans le développement, la prolifération, la différenciation et les fonctions des cellules souches pluripotentes qui sont, en grande majorité, physiologiquement dans un état quiescent. Le térapeptide N-Acétyl-Séryl-Aspartyl-Lysyl-Proline (AcSDKP) a été isolé à partir de moelle osseuse de veau foetal et aurait comme précurseur la thymosine  $\beta 4$  qui possède en N-terminal la séquence AcSDKP [1]. Il est impliqué dans le contrôle de la prolifération des cellules souches hématopoïétiques en inhibant leur entrée en phase S. L'AcSDKP agirait indirectement en bloquant l'action d'un agent stimulant de façon spécifique la prolifération de cellules souches. Les médicaments anticancéreux agissant sur le cycle cellulaire ne font pas la sélection entre les cellules malignes et les progéniteurs normaux qui subissent un traitement cytotoxique. L'administration d'AcSDKP concomitante à un traitement cytotoxique a donc été proposée pour maintenir sélectivement les progéniteurs normaux dans un état quiescent [2]. Une possibilité thérapeutique est l'administration du peptide par voie intraveineuse, une autre est d'inhiber le métabolisme d'AcSDKP afin de prolonger sa demi-vie. Des découvertes récentes sur le catabolisme d'AcSDKP par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques.

L'AcSDKP circule dans le plasma et Rieger *et al.* (Gif-sur-Yvette, France) [3] ont montré récemment *in vitro* que l'ECA est impliquée dans la première et déterminante étape de

l'hydrolyse du peptide. L'ECA hydrolyse la liaison Asp-Lys et produit le dipeptide C-terminal Lys-Pro. L'ECA est une carboxyl dipeptidase qui contient deux domaines similaires appelés domaines N et C, qui possèdent chacun un site catalytique actif. L'implication de chaque site actif dans le catabolisme d'AcSDKP a été étudiée par Rousseau *et al.* (Paris, France) [4] en utilisant l'ACE sauvage et des mutants d'ACE ne présentant qu'un seul site actif fonctionnel. Il s'avère que le domaine N hydrolyse le peptide 50 fois plus rapidement que le domaine C et que l'on peut lui attribuer entièrement le catabolisme d'AcSDKP. AcSDKP est par ailleurs le premier substrat hautement spécifique du domaine N de l'ECA dont les constantes cinétiques sont de l'ordre de celles des substrats physiologiques, ce qui suggère que l'ECA pourrait être impliquée *via* son site actif N-terminal dans la régulation *in vivo* de la concentration locale de ce peptide hémorégulateur.

L'importance de l'ECA dans le métabolisme *in vivo* d'AcSDKP a été montrée récemment par Azizi *et al.* (Paris, France) [5] lors d'un essai croisé en double aveugle contre placebo chez huit volontaires sains ayant pour but d'évaluer l'effet de l'inhibition de l'ECA par le captopril sur la dégradation de l'AcSDKP endogène. Quatre heures après l'administration d'une dose orale unique de 50 mg de captopril, la concentration plasmatique d'AcSDKP s'élève de près de six fois par rapport à sa concentration basale alors qu'elle reste stable sous placebo. L'inhibition de l'ECA par le captopril s'accompagne d'une inhibition de 90 % à 99 % de l'hydrolyse *in vitro* de l'AcSDKP tritié. L'ECA est vrai-

semblablement l'enzyme la plus importante dans le catabolisme d'AcSDKP car la concentration du peptide reste élevée et stable pendant une période de huit heures après l'administration unique de captopril.

Ces résultats ont plusieurs conséquences intéressantes : (1) tout d'abord, l'accumulation du peptide dans le plasma lors de l'inhibition chronique de l'ECA dans l'insuffisance rénale ou après transplantation rénale pourrait être une des explications de l'anémie parfois observée dans ces circonstances ; (2) l'administration d'inhibiteurs de l'ECA, en bloquant de façon prolongée l'hydrolyse d'AcSDKP au niveau plasmatique et tissulaire, pourrait permettre le maintien de concentrations élevées du peptide. Compte tenu de l'effet différentiel d'AcSDKP sur les cellules souches hématopoïétiques et les cellules blastiques, l'administration d'un inhibiteur de l'ECA, seul ou en association avec des facteurs de croissance, pourrait permettre une sortie plus rapide d'aplasie lors d'une chimiothérapie ; (3) la découverte que le domaine N de l'ECA est quasiment le seul impliqué dans le métabolisme d'AcSDKP pourrait stimuler la recherche d'inhibiteurs spécifiques de ce domaine, le captopril étant à présent le plus sélectif des inhibiteurs de l'ECA testés.

L'angiotensine I et la bradykinine sont les substrats les plus connus de l'ECA sur le plan cardiovasculaire et les effets des inhibiteurs de l'ECA ont été rapportés à des modifications de concentrations locales de ces peptides. L'effet « antiprolifératif » des inhibiteurs de l'ECA dans le remodelage cardiaque et vasculaire, attribué

---

à la baisse de la concentration d'angiotensine II, considérée comme un facteur trophique, devrait être reconsidéré car l'activité d'AcSDKP n'est pas confinée aux seules cellules hématopoïétiques comme le montre l'effet inhibiteur de ce peptide sur l'entrée en phase S des hépatocytes [6].

### P.C.

1. Lenfant MJ, Wdzieczak-Bakala J, Guittet E, Prome JC, Sotty D, Frindel E. Inhibitor of hematopoietic pluripotent stem cell proliferation: purification and determination of its structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 779-82.
2. Carde P, Chastang C, Goncalves E, Mathieu-Tubiana N, Vuillemin E, Dewail U, Corvion O, *et al.* Serapenide (acetyl SDKP): étude en phase I-II d'un inhibiteur de l'hématopoïèse la protégeant de la toxicité des monochimiothérapies aracytine et ifosfamide. *CR Acad Sci Paris Ser III* 1992; 3: 545-50.
3. Rieger KJ, Saez-Servent N, Papet MP, Wdzieczak-Bakala J, Morgat JL, Thierry J, Voelter W, Lenfant M. Involvement of human plasma angiotensin I-converting enzyme in the degradation of the hemoregulatory peptide N-acetyl Seryl-Aspartyl-Lysyl-Proline. *Biochem J* 1993; 296: 1-6.
4. Rousseau A, Michaud A, Chauvet M, Lenfant M, Corvol P. The hemoregulatory peptide N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro is a natural and specific substrate of the N-terminal active site of human angiotensin converting enzyme. *J Biol Chem* 1995; 270: 3656-61.
5. Azizi M, Rousseau A, Ezan E, Guyene TT, Michelet S, Grognet JM, Lenfant M, Corvol P, Ménard J. Acute angiotensin-converting enzyme inhibition increases the plasma level of the natural stem-cell regulator N-Acetyl-Seryl-Aspartyl-Lysyl-Proline. *J Clin Invest* 1996 (sous presse).
6. Lombard MN, Sotty J, Wdzieczak-Bakala J, Lenfant M. *In vivo* effect of the tetrapeptide, N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro on the G1-S transition of rat hepatocytes. *Cell Tissue Kinet* 1990; 23: 99-103.