

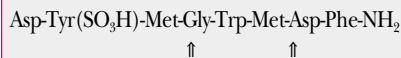
Identification et inhibition d'une peptidase responsable de l'inactivation de la cholécystokinine

Le cerveau contrôle la prise alimentaire en recevant des signaux de satiété déclenchés, soit par des produits de la digestion, soit par la distension de l'estomac ou de l'intestin, et transmis par des nerfs du système nerveux végétatif. Le déclenchement de ces signaux nerveux et leur traitement dans le cerveau met en jeu un réseau complexe de neurones et de neurotransmetteurs, parmi lesquels la cholécystokinine-8 (CCK-8) joue un rôle clé, y compris chez l'homme.

Le signal de satiété est normalement produit lors de la prise alimentaire, qui provoque une libération de la CCK-8 à partir de neurones intestinaux. Le signal est ensuite relayé, par l'intermédiaire de fibres sensitives du nerf pneumogastrique, jusqu'à des centres d'intégration dans le cerveau (noyau du tractus solitaire, hypothalamus) où des neurones à CCK-8 interviennent là encore [1]. L'utilisation de la CCK-8 comme agent thérapeutique dans le but de réduire l'appétit a été tentée mais s'est heurtée à une difficulté majeure: cet octapeptide est rapidement détruit dans le tube digestif ou même dans le sang, après administration intraveineuse. En théorie, cette difficulté pourrait être contournée en utilisant des analogues de synthèse, actifs au niveau des récepteurs, mais absorbés par voie orale et insensibles à l'activité des peptidases. Mais aucune molécule, à ce jour, ne répond de manière satisfaisante à ces critères.

Une autre approche est d'utiliser des inhibiteurs sélectifs de la peptidase responsable de l'inactivation du neu-

ropeptide endogène, afin de renforcer son action biologique. Cette démarche a déjà fait ses preuves dans le domaine des enképhalines, puisqu'elle a conduit à la découverte de l'enképhalinase (EC 3.4.24.11) et à la mise au point d'un inhibiteur maintenant couramment utilisé comme médicament anti-diarrhéique [2, 3]. Dans le cas de la CCK-8, l'identification d'enzyme(s) jouant ce rôle s'est révélée très difficile. Plusieurs peptidases candidates ont été successivement proposées dont le rôle n'a pu, ensuite, être confirmé. En revanche, l'étude de l'inactivation de la CCK-8 endogène libérée à partir de coupes dépolarisées de cerveau, nous a conduit à proposer qu'une ou plusieurs sérine peptidases seraient impliquées dans l'inactivation physiologique du neuropeptide [4]. Nous avons établi que cette(ces) enzyme(s) coupe(nt) la CCK-8 en deux sites précis, les deux liaisons peptidiques impliquant le groupe carboxyl des deux résidus méthionine.



La mise au point d'un dosage radio-immunologique du métabolite principal issu de ces deux coupures, le tripeptide Gly-Trp-Met (GWM) [5], est devenu un outil déterminant pour suivre l'activité enzymatique au cours d'étapes de purification. Utilisant comme substrats, soit l'hexapeptide Asp-Tyr-Met-Gly-Trp-Met, soit le pentapeptide Gly-Trp-Met-Asp-Phe-

NH₂, soit la CCK-8 elle-même, il a été possible de suivre respectivement l'hydrolyse des deux liaisons Met-Gly et Met-Asp [6]. Des membranes de cortex de rat solubilisées ont été soumises à quatre étapes de purification par chromatographie liquide à haute pression, au cours desquelles l'enzyme responsable de la formation de Gly-Trp-Met a été purifiée 8 600 fois. A chaque étape, des profils chromatographiques superposables ont été obtenus avec les trois substrats, indiquant qu'une seule enzyme est responsable des deux coupures de CCK-8. Elle correspond à une protéine de masse moléculaire 135 kDa, marquée irréversiblement avec du di-isopropylfluorophosphate-³H, un réactif de sérines. Après micro-séquençage de trois peptides engendrés par hydrolyse de la protéine purifiée, il est apparu qu'elle présentait une forte homologie avec la tripeptidylpeptidase (TPPII) (EC 3.4.14.10), une enzyme précédemment décrite comme étant cytosolique et purifiée à partir d'érythrocytes humains [7], mais dont la fonction était demeurée inconnue. Cette enzyme satisfait tous les critères d'une « neuropeptidase » responsable de l'inactivation de la CCK: elle révèle une bonne spécificité vis-à-vis de la CCK-8 et est localisée dans des membranes de neurones connus pour répondre à la CCK-8, notamment au niveau des fibres sensitives du nerf pneumogastrique et des régions du cerveau par l'intermédiaire desquels la CCK-8 exerce ses effets de satiété.

En collaboration avec le groupe de C.R. Ganellin (University College London, GB), un inhibiteur a alors été développé rationnellement. Ayant caractérisé systématiquement les sous-sites du site actif de la TPPII à l'aide de séries de di- ou tripeptides, une structure minimale a été identifiée, puis progressivement optimisée en la modifiant, notamment par analogie avec la molécule de CCK-8. Les travaux ont abouti à la synthèse du butabindide, qui inhibe puissamment (Ki nanomolaire) et sélectivement l'activité de l'enzyme TPPII. Sur coupes de cerveau dépolarisées, le butabindide prévient la dégradation de CCK-8 qui reste intacte une fois libérée des neurones, confirmant la TPPII dans son rôle d'inactivateur physiologique de la CCK8 [6].

Les effets du butabindide sur la satiété ont été montrés chez la souris. Les animaux privés de nourriture pen-

dant une journée sont réalimentés partiellement, mais insuffisamment pour être rassasiés. Les animaux ayant reçu le butabindide, puis eu libre accès à la nourriture, ont limité leur prise alimentaire, la diminuant d'environ un tiers par rapport aux animaux témoins. Cet effet est prévenu par le dévazépide, un antagoniste des récepteurs à CCK de type A, confirmant l'implication de la CCK endogène dans l'effet « coupe-faim » du butabindide [6].


Ces travaux montrent que les inhibiteurs de l'enzyme TPPII pourraient constituer un outil chimique intéressant dans l'exploration des fonctions de la CCK8, ainsi que des agents thérapeutiques nouveaux dans le domaine des réducteurs d'appétit, pour lequel l'arsenal thérapeutique est actuellement très réduit.

C.R.
J.-C.S.

1. Ritter RC, Brenner LA, Tamura CS. Endogenous CCK and the peripheral neural substrates of intestinal satiety. *Ann NY Acad Sci* 1994 ; 713 : 255-67.
2. Malfroy B, Swerts JP, Guyon A, Roques BP, Schwartz JC. High affinity enkephalin-degrading peptidase in brain is increased after morphine. *Nature* 1978 ; 276 : 523-4.
3. Baumer Ph, Danquechin Dorval E, Bertrand J, Vetel JM, Schwartz JC, Lecomte JM. Effect of acetylphorphan, an enkephalinase inhibitor, on experimental and acute diarrhoea. *Gut* 1992 ; 33 : 753-8.
4. Rose C, Camus A, Schwartz JC. A serine peptidase responsible for the inactivation of endogenous cholecystokinin in brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 8326-30.
5. Rose C, Vargas F, Bourgeat P, Schwartz JC. A radioimmunoassay for the tripeptide Gly-Trp-Met, a major metabolite of endogenous cholecystokinin in brain. *Neuropeptides* 1996 ; 30 (sous presse).
6. Rose C, Vargas F, Facchinetti P, Bourgeat P, Bambal RB, Bishop PB, Chan SMT, Moore ANJ, Ganellin CR, Schwartz JC. Characterization and inhibition of a cholecystokinin-inactivating serine peptidase. *Nature* 1996 ; 380 : 403-9.
7. Balow RM, Tomkinson B, Ragnarsson U, Zetterqvist O. Purification, substrate specificity and classification of tripeptidyl peptidase II. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 2409-17.

LE POINT SUR LES VIRUS TRANSMISSIBLES PAR LE SANG

le VIH – le virus de l'hépatite C – le virus de l'hépatite G



Les virus transmissibles par le sang
Ouvrage collectif

ISBN 2-7081-2000-0
Prix 2000

Ce livre réunit les connaissances les plus actuelles sur les virus transmissibles par le sang.

Au carrefour de trois disciplines : virologie, transfusion sanguine et Santé Publique, il s'agit d'un **ouvrage tout à fait unique**, dont il n'existe pas d'équivalent dans l'édition médicale.

Dans une première partie, chaque type de virus fait l'objet d'un chapitre rédigé par un spécialiste reconnu du domaine. Les virus étudiés sont ceux des hépatites, de l'immuno-déficience humaine, le HTLV-1, le parvovirus B19, le cytomégalovirus, le virus d'Epstein Barr et les agents transmissibles non conventionnels.

Plus générale, la seconde partie de l'ouvrage aborde des aspects tels que la sécurité transfusionnelle, l'épidémiologie et la législation actuelle.

Des chapitres de dernière heure ont été rajoutés sur le virus de l'hépatite G et le VIH, apportant des informations encore plus précises sur le sujet.

Ouvrage collectif.
Textes réunis par Jean-Jacques Lefrère

Bon de commande

Centre de distribution des livres
John Libbey Eurotext
11 rue de Valenciennes
F-92015 Nanterre Cedex
Tél : 01 47 40 00 40
Fax : 01 47 40 00 44

John Libbey
EUROTEXT

Je désire recevoir

Le virus transmissibles par le sang 295 FF

Frais de port forfaitaire 30 FF

Totalement 325 FF

NOM : _____

Prénom : _____

Adresse : _____

CP : _____ Ville : _____

Région : _____

Ci-joint mon règlement d'un montant de _____ FF

Par chèque (ordre de l'édition John Libbey Eurotext)

Par carte bancaire :

Visa Eurocard/Mastercard American Express

Code N° | | | | | | | | | |

Date d'expiration | | | | | |

Signature : _____