

Le récepteur de l'angiotensine IV est-il une aminopeptidase ?

Raymond Ardaillou

> On a cru pendant longtemps que les effets biologiques du système rénine-angiotensine résultaient uniquement de l'activation de deux classes de récepteurs de l'angiotensine II (Ang II) : le type 1 (AT₁), majoritaire chez l'adulte, et le type 2 (AT₂), prédominant chez l'embryon. L'heptapeptide appelé angiotensine III (Ang III), qui dérive de l'Ang II par délétion de l'acide aspartique N-terminal, est également actif. Les effets de ces deux peptides ont pour conséquence essentielle d'augmenter la volémie et la pression artérielle en agissant sur les résistances vasculaires et la réabsorption rénale du sodium. Il est apparu plus récemment que d'autres métabolites de l'Ang II étaient également pourvus d'activités biologiques. C'est le cas de l'angiotensine IV (Ang IV) qui est l'hexapeptide obtenu par délétion des deux premiers acides aminés de l'extrémité N-terminale de l'Ang II. Sa synthèse se fait en deux étapes : hydrolyse de l'Ang II en Ang III sous l'effet de l'aminopeptidase A, puis transformation de l'Ang III en Ang IV par perte de l'arginine N-terminale sous l'effet de l'aminopeptidase N. L'Ang IV exerce des effets biologiques propres : elle améliore la mémoire et facilite l'apprentissage chez le rat ; elle augmente le flux sanguin dans plusieurs organes (rein, cerveau, cochlée) par vasodilatation locale ; elle stimule la production de l'inhibiteur de type 1 du plasminogène (PAI 1) par les cellules endothéliales. Il était donc probable qu'existait un récepteur spéci-

fique de ce peptide. Un tel récepteur a été identifié sur des bases purement pharmacologiques et appelé AT₄. On entend sous ce nom des sites se liant à la ¹²⁵I-Ang IV ou à son analogue la ¹²⁵I-Nle¹-Ang IV, et ne reconnaissant ni les antagonistes des récepteurs AT₁ comme le losartan, ni ceux des récepteurs AT₂ comme le PD 123319. Ces effets sont inhibés par un antagoniste spécifique, le divalinal-Ang IV. Enfin, autre argument en faveur d'un récepteur AT₄, les hémorphines (fragments de digestion de la chaîne β de l'hémoglobine dont le rôle est encore inconnu) qui, comme la leucine-valine-valine hémorphine 7 (LVV-H7), possèdent une structure N-terminale voisine de celle de l'Ang IV, reconnaissent le récepteur AT₄ avec une affinité proche de celle de l'Ang IV, mais ne reconnaissent pas les récepteurs AT₁ et AT₂.

Tous ces résultats laissent penser que les voies de signalisation du récepteur AT₄ et sa structure seraient vite connues. Il n'en a rien été et la quête se poursuit toujours. Des progrès ont cependant été faits qui ont abouti à la notion de multiplicité des récepteurs de l'Ang IV. D'abord, il est apparu que, dans plusieurs préparations, l'Ang IV se liait au récepteur AT₁, mais avec une affinité bien moindre que celle de l'Ang II, et engendrait des effets semblables à ceux de l'Ang II, qui plus est, inhibés par les antagonistes des récepteurs AT₁, mais non par le divalinal-Ang IV. C'est le cas dans les artères mésentériques et les

Inserm U. 489,
Hôpital Tenon,
4, rue de la Chine,
75970 Paris Cedex 20,
France.

cellules mésangiales de rat où l'Ang IV stimule l'entrée de calcium dans les cellules et produit une contraction. Or, cette question vient d'être, en partie, éclaircie par les travaux de Albiston *et al.* [1] qui ont identifié le récepteur AT₄ comme étant l'aminopeptidase contrôlée par l'insuline (IRAP). La place de certaines enzymes comme sites de liaison de l'Ang IV s'était déjà posée. Dans une étude maintenant ancienne, Czekalski *et al.* [2] avaient remarqué que la bestatine, un inhibiteur des aminopeptidases, déplaçait de façon compétitive la ¹²⁵I-Ang IV fixée au pôle apical de cellules humaines dérivées du tube collecteur. Le pôle apical est le seul accessible sur ces cellules cultivées *in vitro* qui adhèrent à leur support par le pôle basal. Or, la bestatine était inactive dans une préparation de membranes purifiées à partir de ces mêmes cellules, mais à large prédominance basolatérale. Or, l'aminopeptidase N est localisée à la face apicale. Nous avons également montré que l'Ang IV et les hémorphines de structure voisine inhibaient l'activité d'une préparation purifiée d'aminopeptidase N [3].

L'IRAP, clonée en 1995, est une nouvelle venue dans la famille des aminopeptidases. Elle est présente dans les vésicules des adipocytes porteuses du transporteur du glucose GLUT4, et l'insuline assure la translocation simultanée à la membrane de GLUT4 et de l'IRAP, d'où le nom de l'enzyme. Elle possède une



grande homogénéité de structure avec les autres aminopeptidases, en particulier dans le domaine fixant le zinc, caractéristique de cette famille. L'IRAP est largement distribuée dans tous les organes à l'exception du foie. Elle hydrolyse de nombreux peptides et est surtout efficace pour ceux ayant une cystéine à leur extrémité N-terminale, comme l'ocytocine ou l'arginine-vasopressine ; toutefois, d'autres peptides peuvent également lui servir de substrat comme l'Ang III, la métenképhaline, la dynorphine A et la neuromédine B. Les arguments présentés par Albiston *et al.* [1] montrant que l'IRAP est un récepteur de l'Ang IV sont nombreux : la protéine se liant à la ^{125}I -Nle¹-Ang IV et purifiée à partir de membranes de surrénales de bœuf a une composition en acides aminés presque identique à celle de l'IRAP ; la ^{125}I -Nle¹-Ang IV se fixe de manière spécifique aux cellules HEK 293 T (*human embryonic kidney*) transduites avec le gène de l'IRAP. De plus, la distribution de l'IRAP dans le cerveau de souris, appréciée par autoradiographie, se superpose à celle des sites de liaison de la ^{125}I -Nle¹-Ang IV. Enfin, l'Ang IV et la LVV-H7 inhibent la catalyse d'un substrat synthétique par des membranes solubilisées de cellules HEK 293 T transduites avec le gène de l'IRAP. Il y a donc compétition entre l'Ang IV et les autres peptides que l'IRAP reconnaît comme substrat. En réponse à la fixation de l'Ang IV à son site catalytique, la capacité d'hydrolyse de l'IRAP pour ces peptides est ainsi diminuée. Ils ont, de ce fait, une durée de vie prolongée et des effets amplifiés s'ils sont actifs biologiquement. Tel pourrait être le cas des neuropeptides favorisant les fonctions cognitives chez le rat, ce qui expliquerait les effets stimulateurs de l'Ang IV sur ces fonctions.

Cependant, ces travaux ne paraissent pas devoir clore définitivement le débat sur le récepteur AT₄ pour plusieurs raisons. En premier, il reste à montrer que les concentrations locales d'Ang IV atteignent des niveaux suffisants (1-5 μM) pour bloquer le site catalytique

de l'enzyme (alors que ses concentrations dans le sérum sont égales ou inférieures à celles de l'Ang II : quelques pM) et que la durée de vie de peptides actifs en présence d'Ang IV est réellement prolongée. Ensuite, il convient de résoudre la contradiction entre des constantes de dissociation apparente (Kd) de l'ordre du nanomolaire comme l'indique le calcul à partir des expériences de liaison au récepteur, et des concentrations de l'ordre du micromolaire nécessaires pour obtenir un effet inhibiteur sur l'enzyme. Enfin, il faut réconcilier avec ces nouveaux résultats les études antérieurement publiées de caractérisation du récepteur AT₄ et de ses voies de signalisation qui aboutissent à des conclusions parfois peu compatibles avec la notion d'un récepteur qui serait uniquement une peptidase. Citons par exemple le travail récent de Chen *et al.* [4] démontrant que l'activation du récepteur AT₄ dans les cellules LLC-PK₁ dérivées du tube proximal aboutit à la stimulation de tyrosine kinases et à la phosphorylation de la paxilline, une protéine couplant les intégrines au cytosquelette. Il est donc probable qu'à côté de l'IRAP, de l'aminopeptidase N et du récepteur AT₁, d'autres récepteurs de l'angiotensine IV restent encore à identifier. La démonstration par Albiston *et al.* [1] qu'un des récepteurs de l'Ang IV est une enzyme n'est pas originale par ce seul fait puisque deux grandes classes de récepteurs sont connues comme telles, les récepteurs à activité guanylate cyclase et ceux à activité tyrosine kinase. Mais, dans ces deux cas, l'activité enzymatique du récepteur a pour conséquence soit la formation d'un deuxième messager, le GMP cyclique, soit la phosphorylation, suivie de l'activation, de protéines intracellulaires. Dans le cas de l'Ang IV et de l'IRAP ou de l'aminopeptidase N, il n'y a pas transmission intracellulaire du signal, mais seulement blocage de l'activité de dégradation de peptides extracellulaires. ♦

Insulin-regulated aminopeptidase is a receptor for angiotensin IV

1. Albiston AL, McDowall SG, Matscacos D, *et al.* Evidence that the angiotensin IV receptor (AT₄) is the enzyme insulin-regulated aminopeptidase. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 48623-6.
2. Czekalski S, Chansel D, Vandermeersch S, Ronco P, Ardaillou R. Evidence for angiotensin IV receptors in human collecting duct. *Kidney Int* 1996 ; 50 : 1125-31.
3. Garreau I, Chansel D, Vandermeersch S, Fruitier I, Piot JM, Ardaillou R. Hemorphins inhibit angiotensin IV binding and interact with aminopeptidase N. *Peptides* 1998 ; 19 : 1339-48.
4. Chen JK. Angiotensin IV induces tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase and paxillin in proximal tubule cells. *Am J Physiol* 2001 ; 280 : F980-8.