

## Transcytose de l'hormone IGF1 via la barrière hématoencéphalique

Sylvie Duflot, Ignacio Torres

► L'hormone de croissance IGF1 (*insulin-like growth factor 1*), produite principalement par le foie, présente une structure chimique très semblable à celle de l'insuline. Cette hormone a un rôle très important dans la croissance cellulaire chez l'enfant et est aussi connue pour ses effets anaboliques chez l'adulte. L'IGF1 module la croissance des vaisseaux [1], la neurogenèse [2], l'excitation neuronale [3] et les fonctions cognitives [4]. L'IGF1, outre son activité comme médiateur de croissance cellulaire, joue un rôle important dans l'homéostasie cérébrale.

Nous avons montré récemment [5] que l'activation neuronale induite par stimulation électrique ou comportementale dans différentes régions du cortex somato-sensoriel entraîne une augmentation de la concentration d'IGF1 dans les régions activées. La présence d'un antagoniste du récepteur de l'IGF1 dans différentes régions du cortex somato-sensoriel diminue l'intensité de l'activation neuronale en réponse à des stimulations tactiles unilatérales. La présence d'IGF1 amplifie donc l'activation neuronale, ce qui pourrait expliquer pourquoi la concentration de cette hormone est régulée directement par les neurones.

### IGF1 est internalisée via la barrière hématoencéphalique lors d'une stimulation neuronale

Pour comprendre comment les neurones régulent la concentration en IGF1 dans les différentes régions excitées du système nerveux central (SNC), nous avons émis plusieurs hypothèses sur l'origine de cette hormone : l'IGF1 pourrait être

synthétisée localement dans le cerveau ou provenir de la circulation sanguine via la barrière hémato-cérébro-spinale ou via la membrane hématoencéphalique. Après une stimulation neuronale, aucun transcrite *IGF1* n'est détecté dans les régions stimulées, excluant une synthèse locale de la protéine. Comme nous l'avons précédemment publié, l'IGF1 peut traverser la barrière hémato-cérébro-spinale pour gagner le liquide céphalorachidien (LCR) [6]. Mais il n'y a aucune variation du taux d'IGF1 dans le LCR d'animaux ayant subi ou non une stimulation neuronale. De plus, l'injection d'IGF1 directement dans le LCR n'entraîne aucune augmentation du stimulus dépendant d'IGF1 dans le cortex somato-sensoriel actif. Le LCR ne distribue donc pas l'IGF1 aux régions activées du cerveau. La seule hypothèse possible pour expliquer la présence d'IGF1 dans les régions cérébrales restait donc l'internalisation de l'hormone dans la barrière hématoencéphalique. Lorsque l'IGF1 marquée à la dioxigénine (Dig-IGF1) est administrée immédiatement avant une stimulation du nerf sciatique, la présence de cette molécule est détectée par immunomarquage dans les régions stimulées du cortex somato-sensoriel. Un double marquage du cortex reconnaissant IGF-1 et les marqueurs cellulaires spécifiques (lectine pour l'endothélium, GFAP ou *glial acidic fibrillary protein* pour les astrocytes et bêta3 tubuline pour les neurones) montrent que Dig-IGF1 colocalise avec les vaisseaux cérébraux, les astrocytes et les neurones. De plus, des analyses en

Neuroendocrinology Laboratory,  
Cajal Institute, Calle Doctor Arce 37,  
28006 Madrid, Espagne.  
[sduflot@gmail.com](mailto:sduflot@gmail.com)

microscopie électronique confirme la présence d'IGF1 (marqué à l'or colloïdal) dans différents compartiments des vaisseaux cérébraux et neurones.

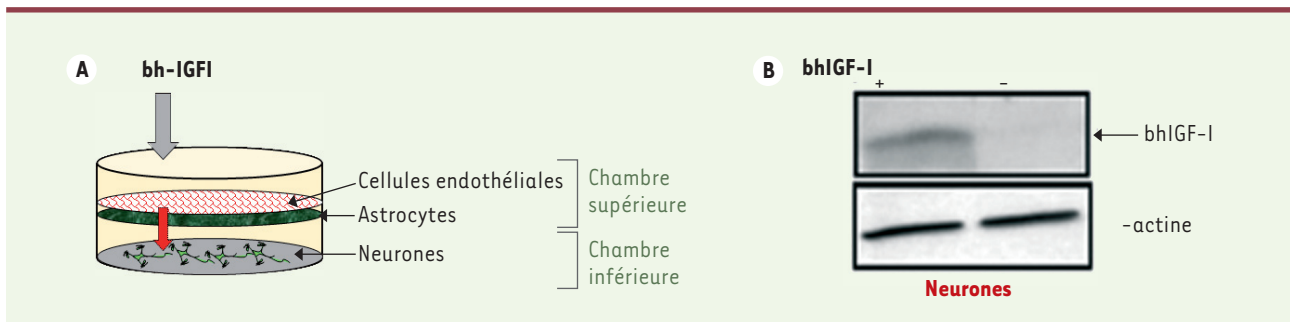
### Transcytose d'IGF1 dans les cellules endothéliales de la barrière hématoencéphalique

La stimulation unilatérale de zones du cortex somato-sensoriel active le flux sanguin cérébral et pourrait permettre l'entrée d'une plus grande quantité d'IGF1. Une sonde de microdialyse a été placée dans le cortex somato-sensoriel pour collecter du sang et y mesurer le taux d'IGF1 après stimulation des vibrisses<sup>1</sup> de souris. L'infusion intracorticale de TTX (tétrotoxine), un inhibiteur de l'activité neuronale, inhibe l'augmentation du taux d'IGF1 produit par la stimulation des vibrisses. Le même effet est observé après infusion intracorticale d'un inhibiteur de la NO (*nitric oxid*) synthase qui permet de bloquer la vasodilatation. C'est donc la stimulation de l'activité neuronale couplée à une augmentation du flux sanguin cérébral qui est à l'origine de l'entrée d'IGF1 dans les zones stimulées du cerveau.

Pour étudier comment IGF1 traverse la membrane hématoencéphalique, nous avons utilisé un système *in vitro* qui reproduit les caractéristiques de cette membrane (Figure 1A). Le dispositif comprend une chambre supérieure (correspondant à la lumière des capillai-

<sup>1</sup> Vibrisses : organes sensoriels propres à certains animaux. Il s'agit de longs prolongements kératinisés (poils [moustaches] chez les mammifères, plumes chez les oiseaux) qui transmettent leurs vibrations à un organe sensoriel situé à leur base.





**Figure 1. Dispositif mimant la membrane diencéphalique in vitro.** **A.** Dans un puits à double chambre, dont le milieu supérieur représente le flux sanguin et le milieu inférieur le flux cérébral, la coculture de cellules endothéliales et d'astrocytes dans la partie supérieure transporte bh-IGF1, ajouté au milieu de la chambre supérieure, vers la partie inférieure où il sera internalisé par les neurones. **B.** Le Western blot montre la présence de bh-IGF1 dans les extraits des neurones seulement lorsque bh-IGF1 est ajouté sur la coculture. bh-IGF1 : *biotinylated human insulin like growth factor 1*.

res) et une chambre inférieure (correspondant au flux cérébral) où sont déposés les neurones. Dans la chambre supérieure, on cocultive des cellules endothéliales au-dessus d'une couche d'astrocytes. Lorsqu'on ajoute de l'IGF1 biotinylé (bh-IGF1) au milieu de culture des chambres, les cellules endothéliales, les astrocytes et les neurones l'internalisent. Si le bh-IGF1 est ajouté au milieu de culture de la seule chambre supérieure du dispositif (équivalent de la circulation sanguine), cette molécule est détectée dans les neurones de la chambre inférieure. La transfection d'un dominant négatif du récepteur de l'IGF1 dans les cellules endothéliales de la chambre supérieure bloque la transcytose (traversée dans la cellule) du bh-IGF1. Ainsi dans les conditions normales, l'IGF1 se lie à son récepteur endothélial avant d'être internalisé et transporté par transcytose vers les cellules gliales (astrocytes).

L'immunoprécipitation du récepteur de l'IGF1 dans les cellules endothéliales a révélé qu'il était associé à LRP1 (*low density lipoprotein receptor-related protein 1*), une lipoprotéine de la classe des LDL capable de transporter des molécules de part et d'autre de la membrane endothéliale par endocytose. Le blocage de LRP1 avec un petit ARN interférent (ARNsi) inhibe en grande partie l'internalisation de bh-IGF1, indiquant que LRP1 permet le transport

d'IGF1 complexé à son récepteur dans la membrane endothéliale.

Dans le sang, IGF1 est pratiquement toujours lié à IGFBP3, une protéine de liaison spécifique et qui augmente sa demi-vie. Pour être internalisée dans la membrane hématoencéphalique, IGF1 doit être libérée de sa protéine de liaison. L'ajout d'IGFBP3 dans le milieu de culture de la chambre supérieure du dispositif qui mime la barrière hématoencéphalique diminue la quantité d'IGF1 internalisée par les cellules endothéliales. À l'inverse, une protéase comme la PSA (*prostate specific antigen*) qui clive IGFBP3 stimule la transcytose d'IGF1 et sa captation par les neurones. La PSA n'étant pas produite par les cellules cérébrales, nous avons étudié l'effet d'une autre protéase présente dans les cellules endothéliales, la *matrix metalloproteinase 9* (MMP9), qui a, comme la PSA, stimulé la transcytose. Cet effet était inhibé par un excès d'IGFBP3.

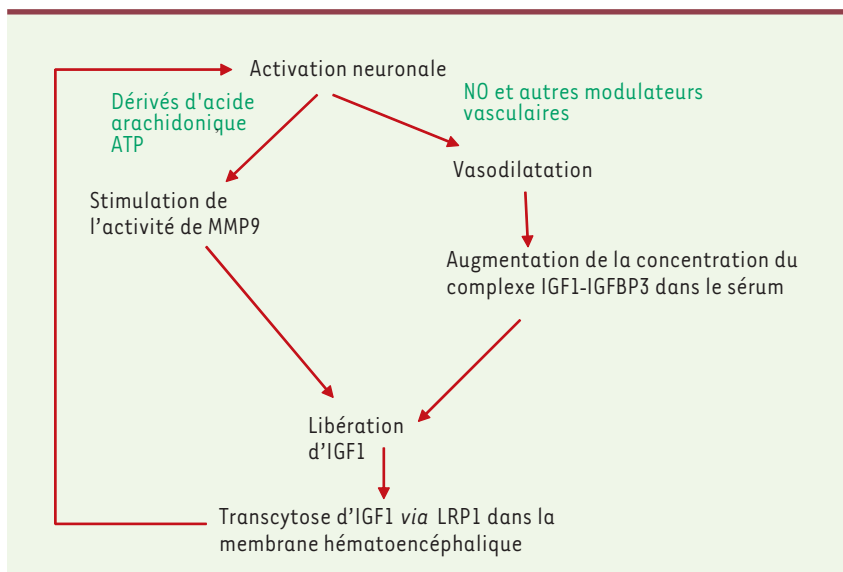
#### Médiateurs vasoactifs responsables de la stimulation de l'internalisation d'IGF1

Puisque l'activation neuronale induit la transcytose d'IGF1 par les cellules endothéliales et son passage de la circulation sanguine vers les neurones, nous avons fait l'hypothèse qu'elle pouvait aussi être responsable de l'activation des MMP9. Lors de l'activation neuronale, du glutamate est libéré dans le flux céré-

bral et permet à son tour la libération de médiateurs vasoactifs par les astrocytes. Lorsqu'on ajoute du glutamate dans la chambre inférieure (neurones) du modèle de barrière hématoencéphalique, la transcytose de bh-IGF1 (ajouté dans la chambre supérieure) est activée. Cette activation est inhibée en présence d'un inhibiteur de la MMP9, ce qui confirme le rôle de cette protéase dans la transcytose d'IGF1. Comme nous pouvions nous y attendre, la stimulation du cortex somato-sensoriel augmente la concentration en MMP9 dans les régions stimulées. Nous avons ensuite étudié l'action de quelques médiateurs vasoactifs libérés par les cellules gliales après stimulation cérébrale et actifs sur les métalloprotéases, comme les dérivés de l'acide arachidonique, la prostaglandine E2 (PGE2), l'acide 11,12-époxyicosatriénoïque (EET) et l'ATP. Tous activent l'endocytose de bh-IGF1 dans les cellules endothéliales, activation qui est inhibée en présence d'un inhibiteur de la MMP9.

#### Conclusion

Ces résultats démontrent comment l'activité cérébrale provoque le passage d'IGF1 de la circulation vers les zones actives du cerveau. C'est en modulant la perméabilité de la membrane hématoencéphalique que l'activité neuronale permet l'entrée d'IGF1 dans le cerveau. La transcytose de molécules par



**Figure 2. Mécanisme d'action de la stimulation neuronale sur le passage d'IGF1 à travers la barrière hématoencéphalique.**

la membrane hématoencéphalique est la façon la plus commune de moduler cette barrière. Le schéma est le suivant : l'activité neuronale libère du glutamate, qui stimule la sécrétion de médiateurs diffusibles tels PGE<sub>2</sub>, EET et ATP. Ces médiateurs stimulent l'activité de la MMP9, qui libère l'IGF1 de la protéine IGFBP3 et rend possible sa fixation à son récepteur endothélial et sa transcytose dans la membrane hématoencéphalique via la protéine LRP1 (Figure 2).

L'IGF1 apparaît donc comme un médiateur important d'effets bénéfiques pour le cerveau : en effet, les comportements neuroprotecteurs tel que l'exercice physique ou un régime alimentaire équilibré favorisent l'entrée d'IGF1 dans le cerveau [7,

8] ; l'activité cérébrale entraîne l'entrée d'IGF1 dans le but de protéger les régions excitées [9] ; enfin, nous avons montré précédemment que l'intensité de l'activité neuronale est diminuée si la quantité d'IGF1 présente dans le flux cérébral est insuffisante. L'hormone de croissance IGF1, en plus de son rôle neuroprotecteur, est indispensable pour une activité cérébrale maximale. Dans les temps modernes où si l'espérance de vie ne cesse d'augmenter, les maladies neurodégénératives sont aussi en plein essor, on pourrait imaginer un rôle thérapeutique pour l'hormone IGF1 dans la prévention et le traitement de ces pathologies. ♦

**Transcytosis of IGF1 through the hematoencephalic barrier**

## CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Lopez-Lopez C, LeRoith D, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 9833-8.
2. Aberg MA, Aberg ND, Hedbacker H, et al. Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000 ; 20 : 2896-903.
3. Nuñez A, Carro E, Torres-Aleman I. Insulin-like growth factor I modifies electrophysiological properties of rat brain stem neurons. *J Neurophysiol* 2003 ; 89 : 3008-17.
4. Trejo JL, Piriz J, Llorens-Martin MV, et al. Central actions of liver-derived insulin-like growth factor I underlying its pro-cognitive effects. *Mol Psychiatry* 2007 ; 12 : 1118-28.
5. Nishijima T, Piriz J, Duflot S, et al. Neuronal activity drives localized blood-brain-barrier transport of serum insulin-like growth factor-I into the CNS. *Neuron* 2010 ; 67 : 834-46.
6. Carro E, Spuch C, Trejo JL, et al. Choroid plexus megalin is involved in neuroprotection by serum insulin-like growth factor I. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 10884-93.
7. Carro E, Nuñez A, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci* 2000 ; 20 : 2926-33.
8. Dietrich MO, Spuch C, Antequera D, et al. Megalin mediates the transport of leptin across the blood-CSF barrier. *Neurobiol Aging* 2008 ; 29 : 902-12.
9. Carro E, Trejo JL, Nuñez A, Torres-Aleman I. Brain repair and neuroprotection by serum insulin-like growth factor I. *Mol Neurobiol* 2003 ; 27 : 153-62.



**Tarifs d'abonnement m/s - 2011**

**Abonnez-vous**

**à médecine/sciences**

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

---

**Bulletin d'abonnement**

**page 368 dans ce numéro de m/s**

