

Prolactine (PRL) et hormone de croissance (GH) :
modes d'action moléculaires, fonctions biologiques,
pathologies associées et nouvelles stratégies thérapeutiques

Vincent GOFFIN, PhD

INSERM, Unité 845

Centre de Recherche CROISSANCE et SIGNALISATION

Faculté de Médecine Necker, Paris

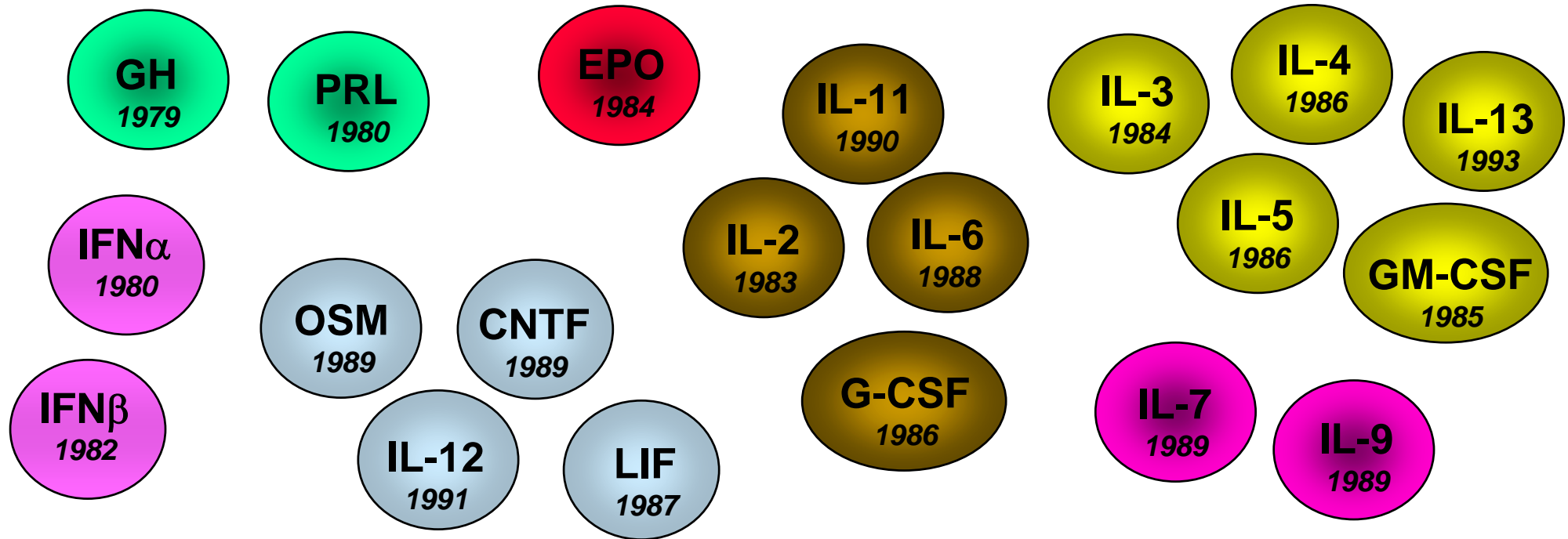
goffin@necker.fr



10 Avril 2008



Clonage des premiers ADNc de cytokines hématopoïétiques



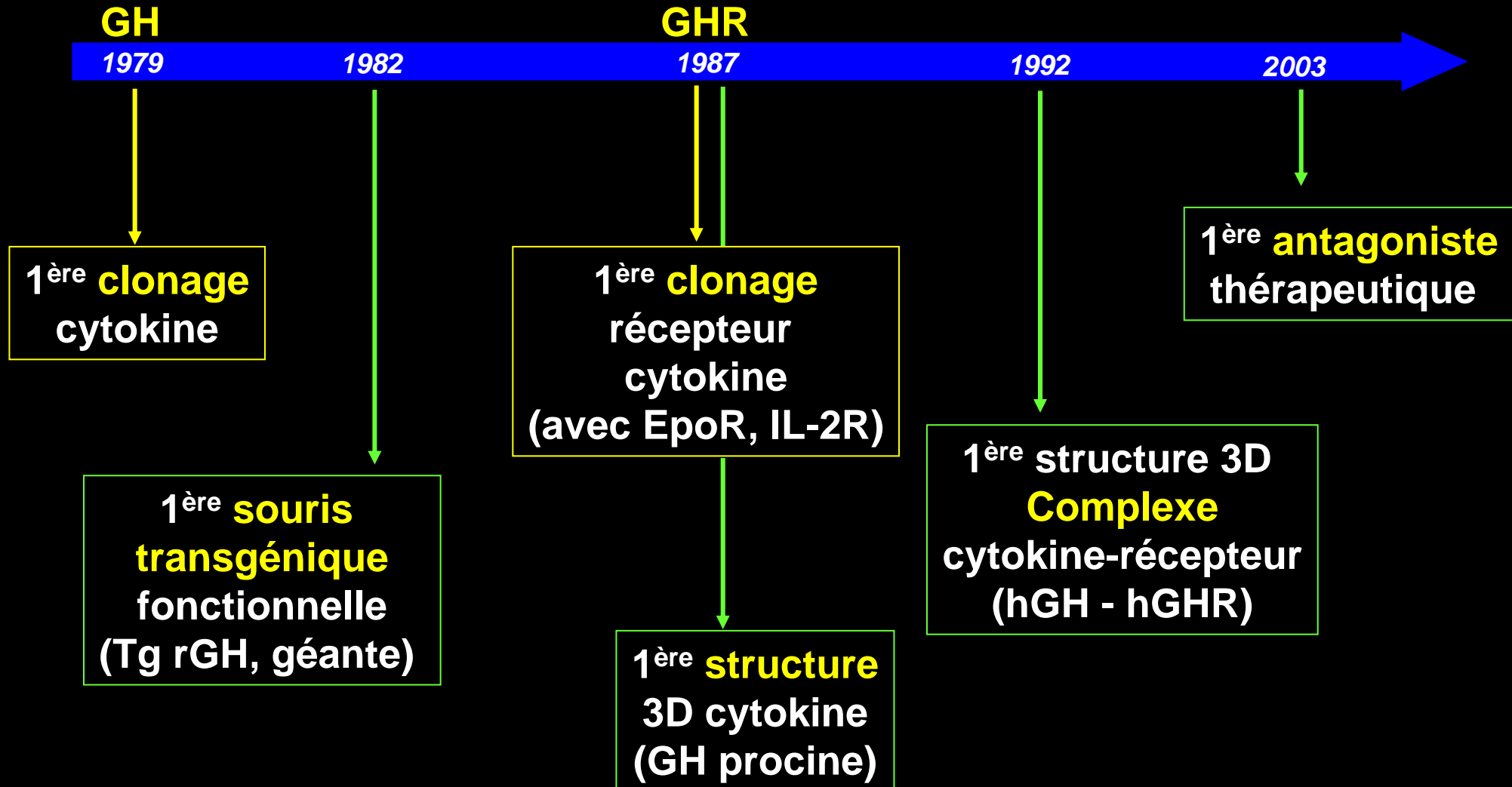
⇒ Similarités de séquence / fonction : aucune (globale)

⇒ Points communs : structure 3D

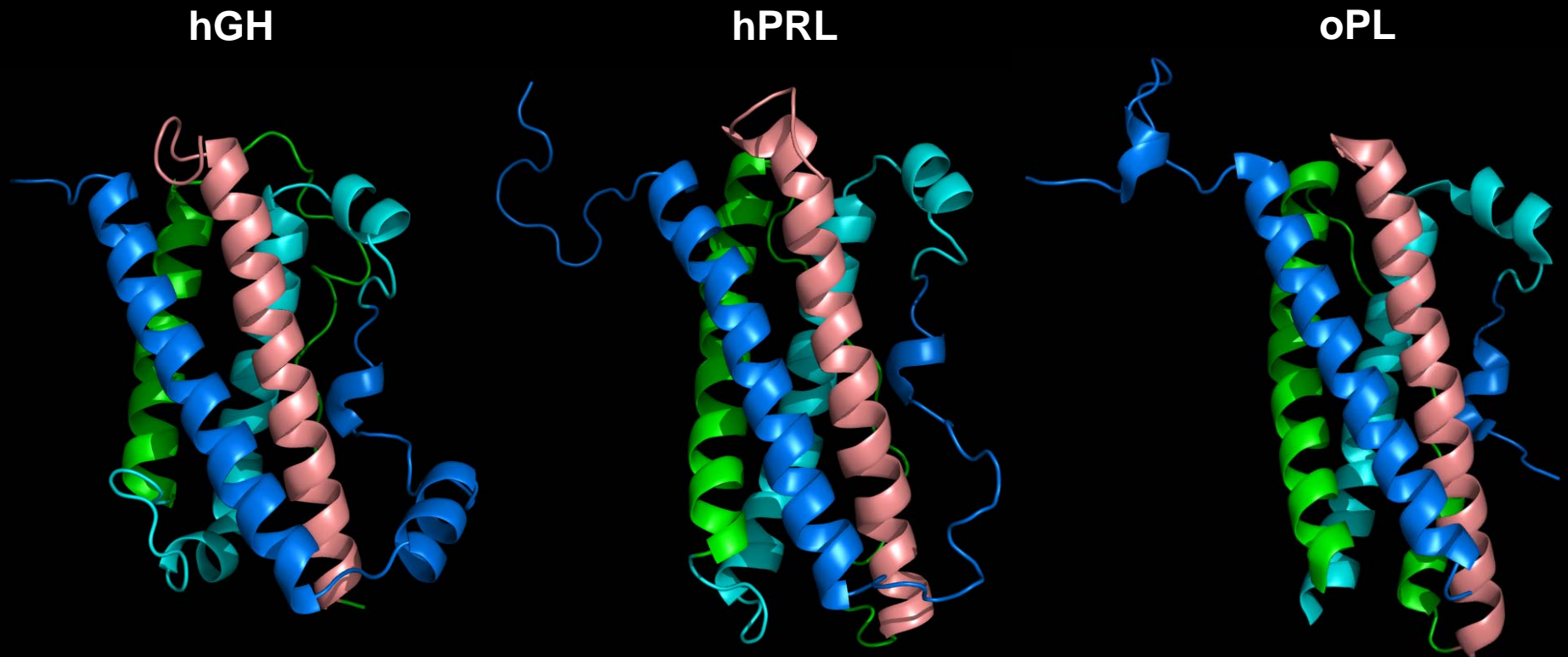
récepteurs

mécanismes d'action moléculaires

La GH, hormone pionnière



Structure 3D des protéines PRL/GH/PL



- **Structure = signature des cytokines hématopoïétiques**
- **Modifications post-traductionnelles de la PRL:**
 - Glycosylation, phosphorylation, aggrégation, protéolyse
 - Modifie les propriétés biologiques

1990 : Superfamille des récepteurs de cytokines hématopoïétiques

CLASSE 1

PRLR	:	Prolactine (PRL)
GHR	:	Hormone de croissance (GH pour Growth Hormone)
EPOR	:	Erythropoïétine (EPO)
TPOR	:	Thrombopoïétine (TPO)
ILs-R	:	Interleukines (IL-2 à -7, -9, -11, -12, -13, -15, -21, -23, -27)
GM-CSFR	:	Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor (GM-CSF)
G-CSFR	:	Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF)
LIFR	:	Leukemia Inhibitory Factor (LIF)
CNTRF	:	Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF)
CT-1R	:	Cardiotrophine-1 (CT-1)
OBR	:	Leptine (OB pour Obesity factor)
OSMR	:	Oncostatine M (OSM ou OM)
IL-2Rβ, γ	:	Chaîne β et γ du récepteur IL-2
gp130	:	Glycoprotéine de P.M. 130 kDa
βc	:	Chaîne β commune

En 2005, on recense
34 de membres

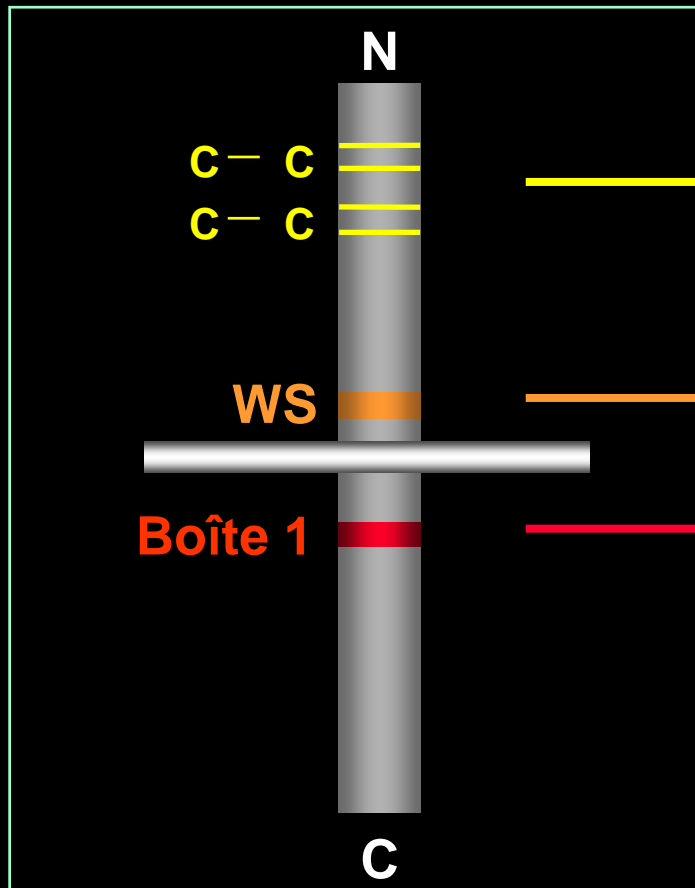
CLASSE 2

IFN	:	Interférons (α, β, γ, ω)
IIs-R	:	Interleukines (IL-10, -19, -20, -22, -24, -26, -28, -29)

En 2005, on recense
12 de membres

Prototype du récepteur de cytokine hématopoïétique de classe I

3 motifs très conservés :



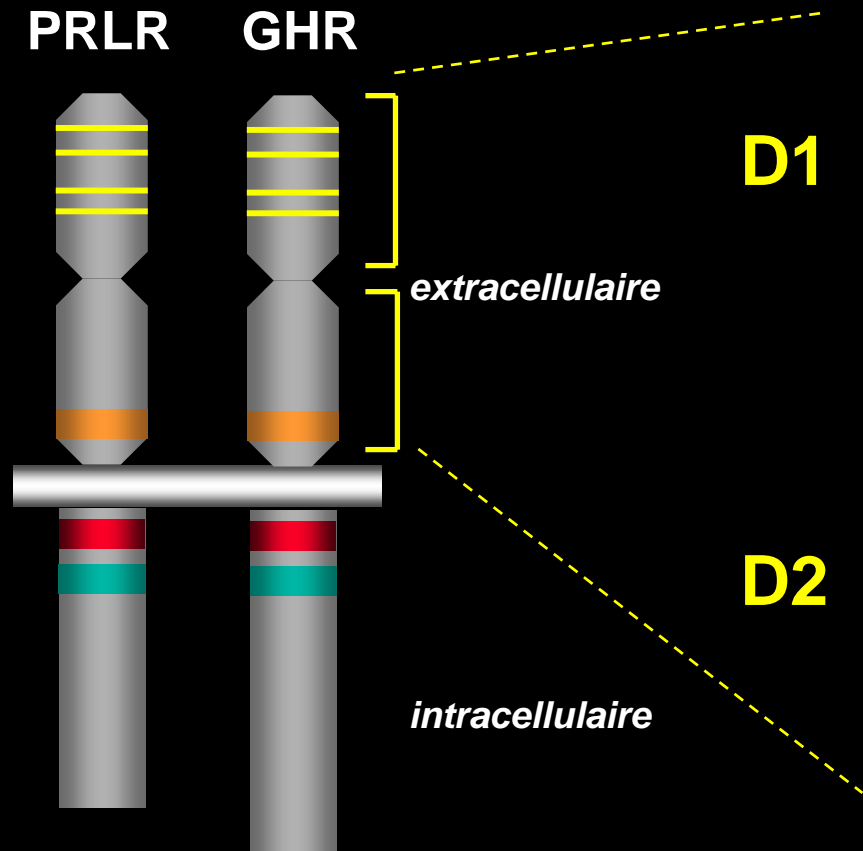
2 paires de cystéines (pont disulfure)

Motif WS : Trp - Ser - X - Trp - Ser

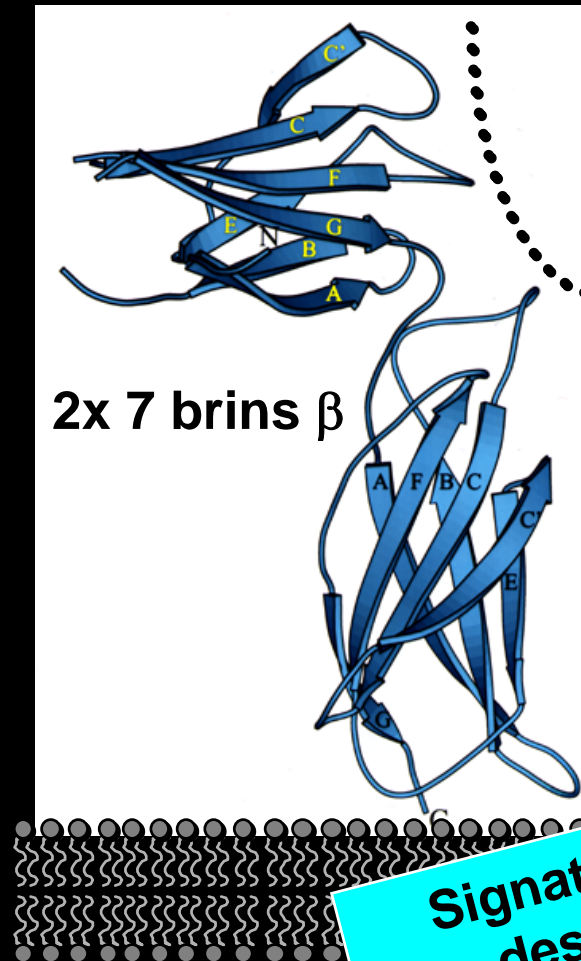
Boîte 1

Boîte 1 : Région riche en prolines

Structure 3D du domaine extracellulaire



PRLR et GHR



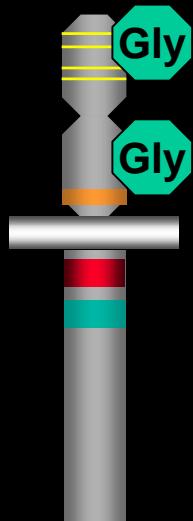
**Site d'interaction
avec le ligand**

**Signature structurales
des récepteurs de
cytokines hématopoïétiques**

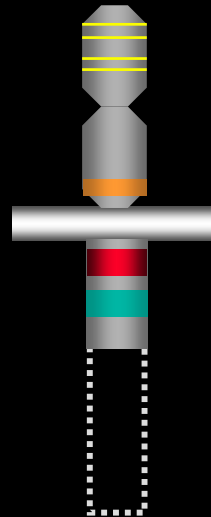
Isoformes des récepteurs PRL/GH

- Gène unique pour chaque récepteur
- Epissage alternatif → **codon STOP prématuré**

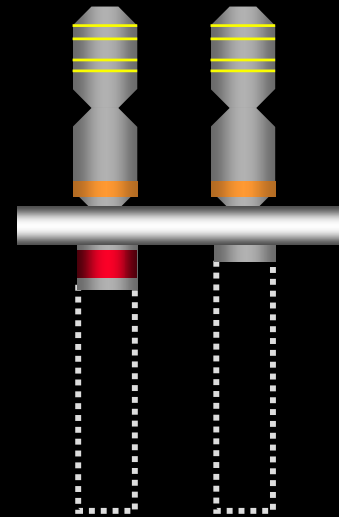
longues
toutes les activités



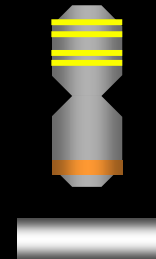
intermédiaires



Courtes
activité partielle/nulle

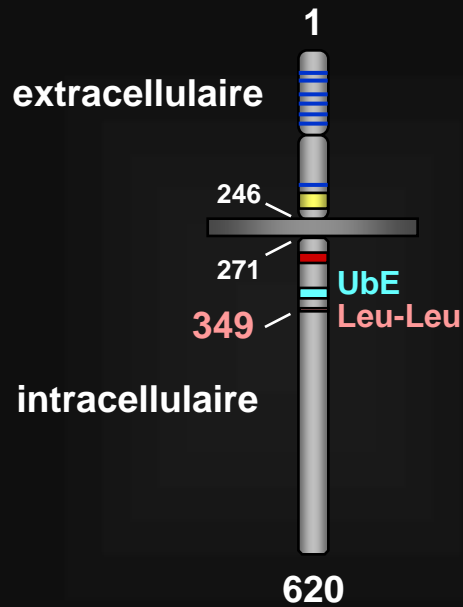


Solubles



- Aucune activité intracellulaire
- Interférence avec les ligands (?)
- ↑ demi-vie ligands

Biodisponibilité du GHR



Expression

- Majorité des tissus / types cellulaires
- Régulation de la transcription
(GH, stéroïdes, insuline, état nutritionnel, diabète...)

Endocytose - Dégradation

- Constitutive (GH-indépendante) + GH-dépendante
 - UbE : Ubiquitin-dependent endocytosis
 - Di-leucine : Ubiquitin-independent endocytosis

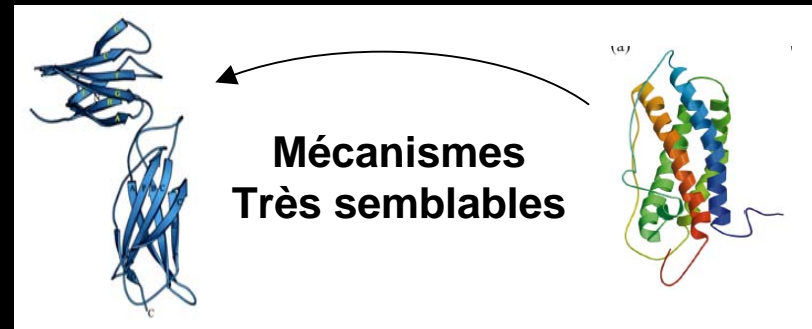
L'endocytose / dégradation régule la sensibilité des cellules à la GH

Shedding - GHBP

- Protéolyse partielle du GHR membranaire
- TACE (*TNF alpha converting enzyme*) – Adam17

Spécificités de liaison des protéines de la famille PRL/GH/PL

PRLR et GHR :
2 x 7 brins β



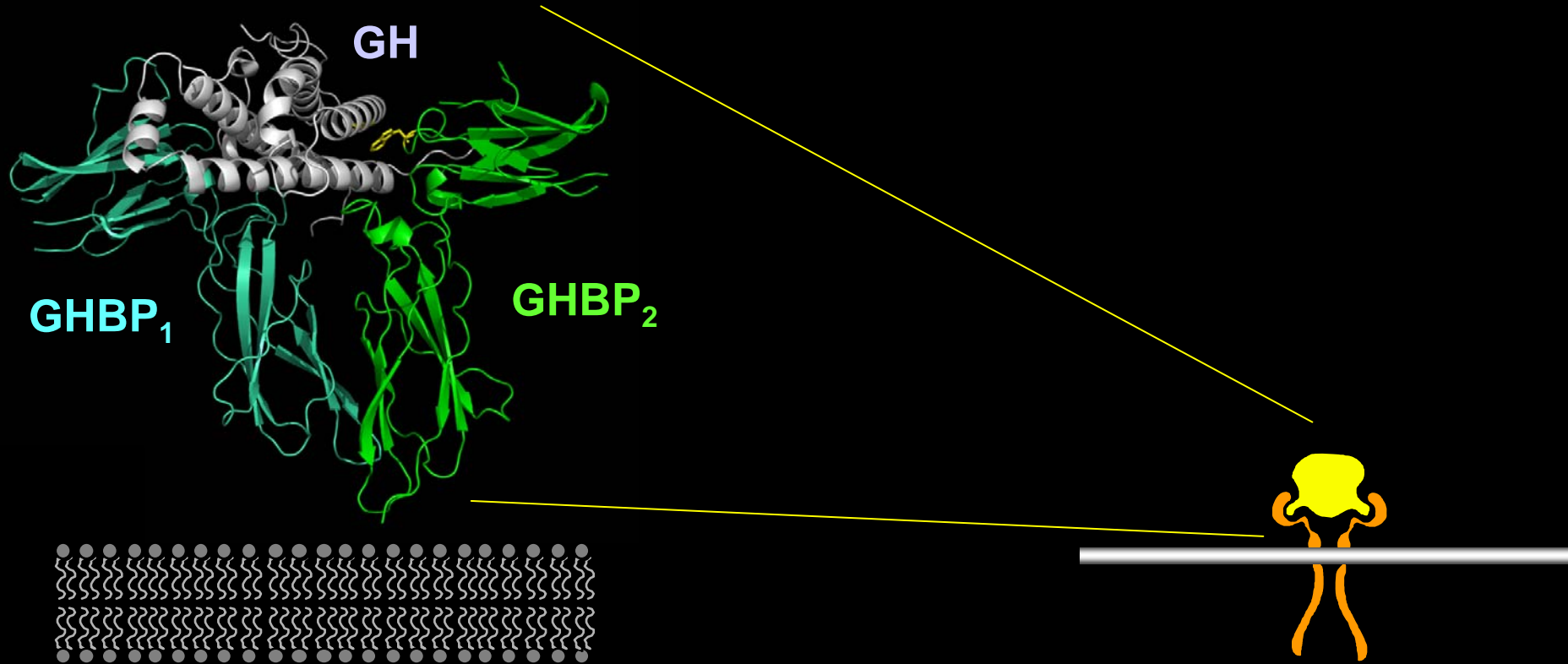
PRL, GH, PL :
4 hélices α

Spécificité de liaison aux récepteurs
déterminée par quelques acides aminés clés

	hGH	hPL	hPRL
Récepteur GH	+	-	-
Récepteur PRL	+	+	+

3 ligands potentiels du PRLR

Mécanisme moléculaire d'activation du GHR



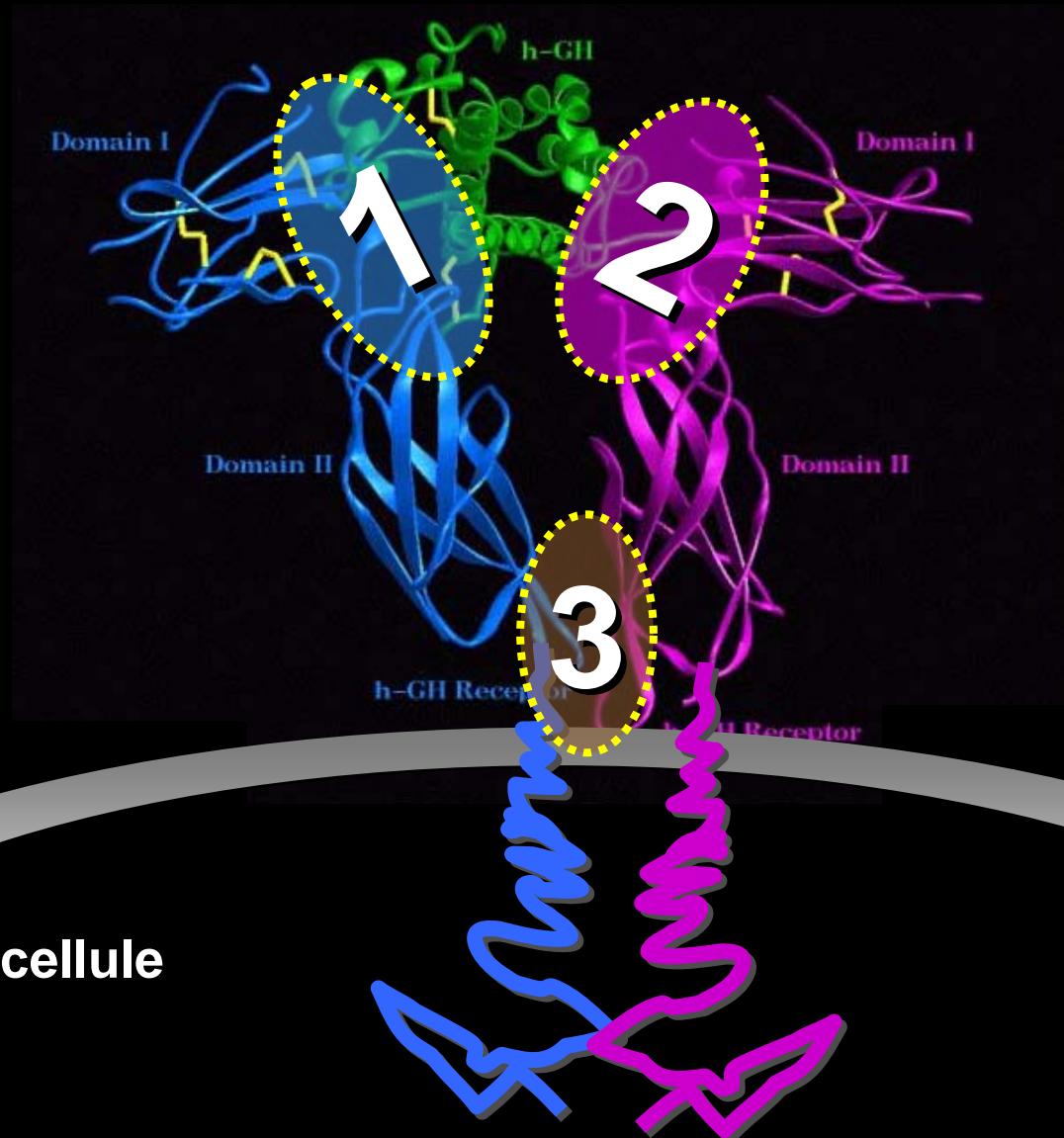
Le GHR activé est un homodimère

Mécanisme moléculaire d'activation des récepteurs PRL et GH

Dimérisation
du récepteur

hGH: 2 sites
d'interaction

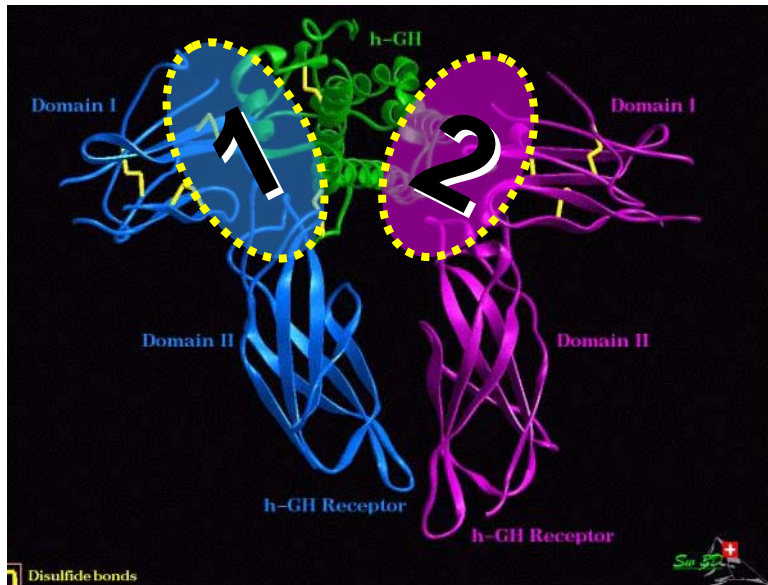
- site 1
- site 2



De Vos et al, 1992

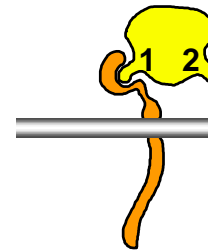
Mécanisme moléculaire d'activation des récepteurs PRL et GH

Modèle 1 : Dimérisation séquentielle du récepteur (1992)



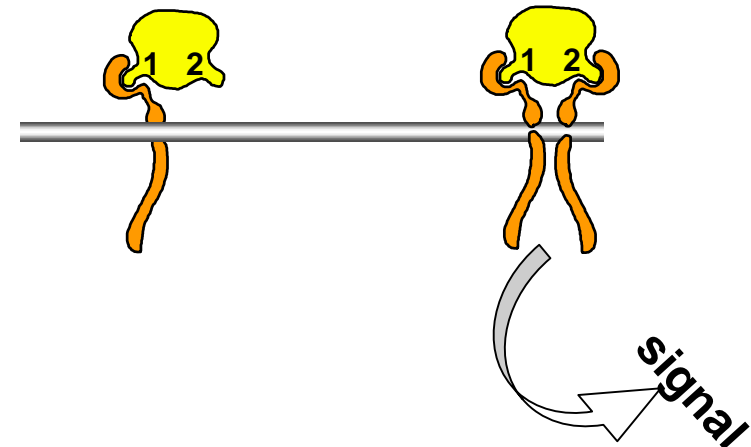
complexe 1 : 1

inactif



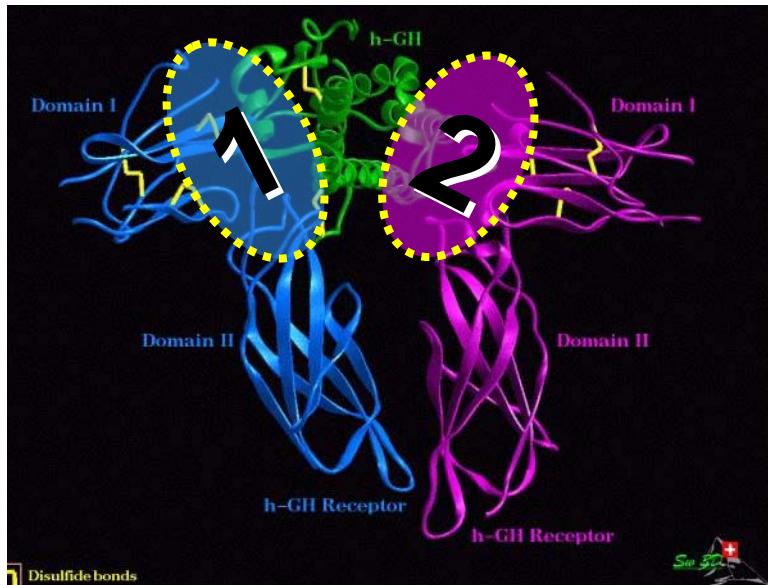
complexe 1 : 2

actif

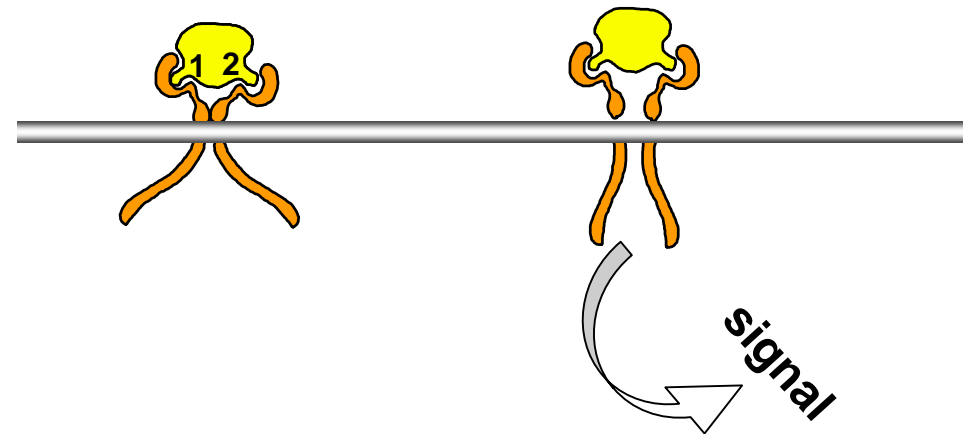


Mécanisme moléculaire d'activation des récepteurs PRL et GH

Modèle 2 : Récepteur pré-dimérisé (2005)



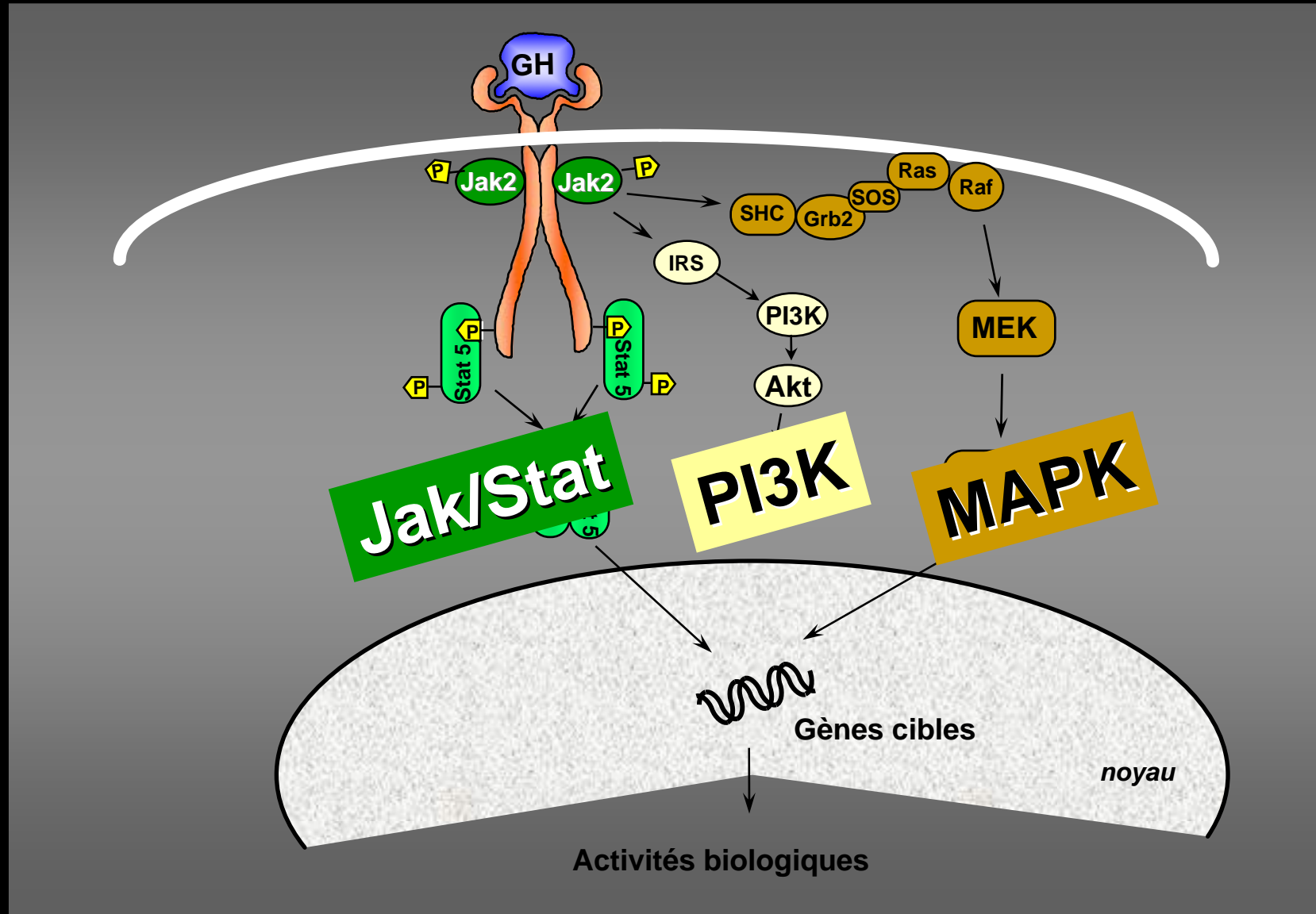
Changement conformationnel
(rotation,...?)



GHR : pré-dimérisé (arguments)

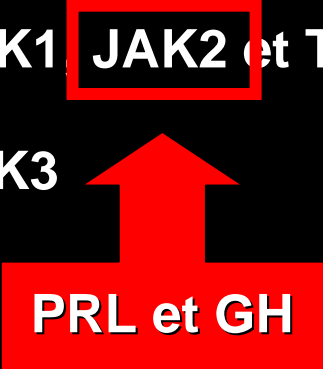
PRLR : pré-dimérisé (???)

Transmission du signal par le GHR



Les JAK kinases

<u>Activité enzymatique</u>	: tyrosine kinase
<u>Clonage</u>	: 1991-1992 (PCR homologue, hybridation faible stringence)
<u>4 membres</u>	: JAK1, JAK2, JAK3, Tyk2
<u>Nom</u>	: <u>J</u> ust <u>A</u> nother <u>K</u> inase
<u>Localisation subcellulaire</u>	: cytoplasmique (+ nucléaire si activé?)
<u>Distribution cellulaire</u>	: JAK1, JAK2 et Tyk 2 → ubiquistes JAK3 → cellules hématopoïétiques et endothéliales



The diagram illustrates the relationship between PRL and GH and the JAK2 kinase. A red box labeled 'PRL et GH' is at the bottom, with a red arrow pointing upwards to a red box containing 'JAK2'. This 'JAK2' box is part of the text 'JAK1, JAK2 et Tyk 2' in the 'Distribution cellulaire' row of the table.

Les STATs

Fonction

: **Facteurs de transcription**

Nom

: **S**ignal **T**ransducer and **A**ctivator of **T**ranscription

Taille

: ± 750-850 a.a. (90-95 kDa)

Localisation subcellulaire

: **Cytoplasmique (inactive)**

Nucléaire (activée)

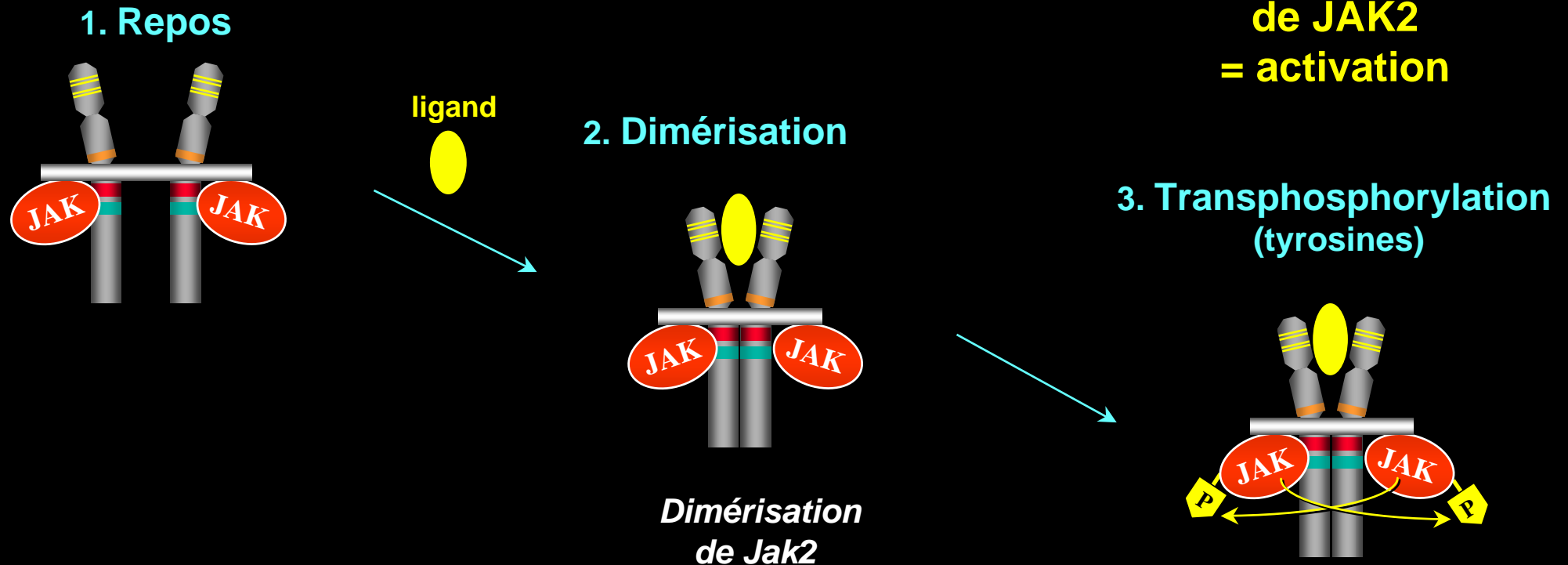
7 membres (gènes)

: STAT **1**, 2, 3, 4, **5A, 5B**, 6

PRL et GH

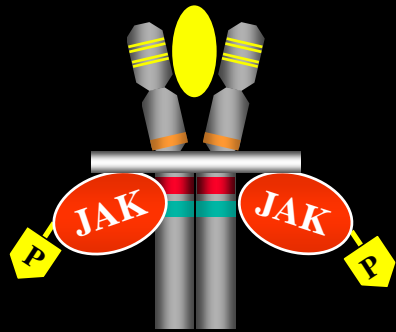


Activation de la voie JAK / STAT

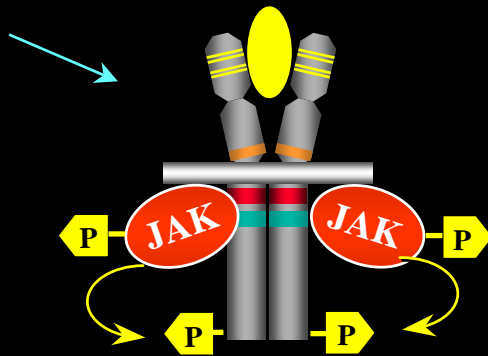


Activation de la voie JAK / STAT (suite)

4. JAK2 activé

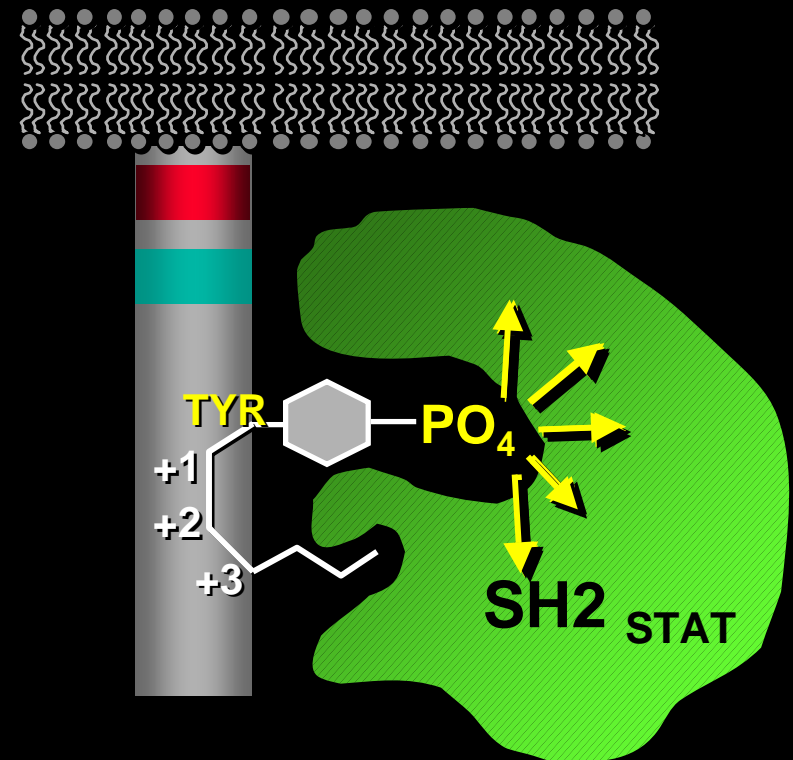


5. Phosphorylation du récepteur (tyrosines)



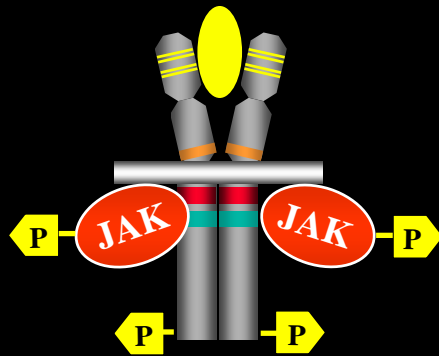
Récepteurs phosphorylés sur tyrosine

Sites d'ancrage pour des domaines SH2 des protéines STAT

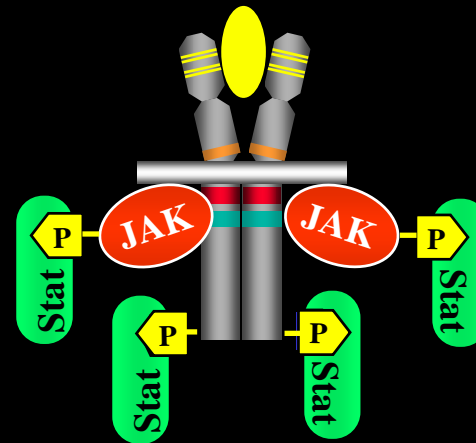


Activation de la voie JAK / STAT (suite)

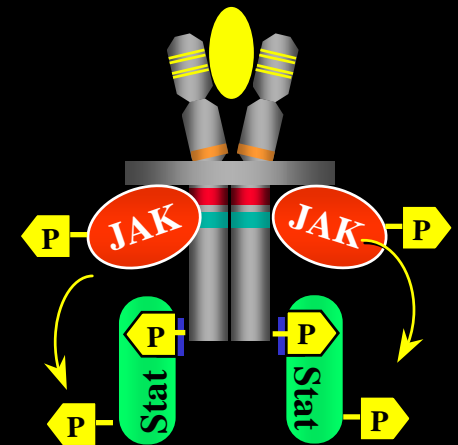
5. Récepteur phosphorylé



6. Liaison des STATs (SH2)



7. Phosphorylation des STATs



STAT



SH2

Substrats voie JAK/STAT:

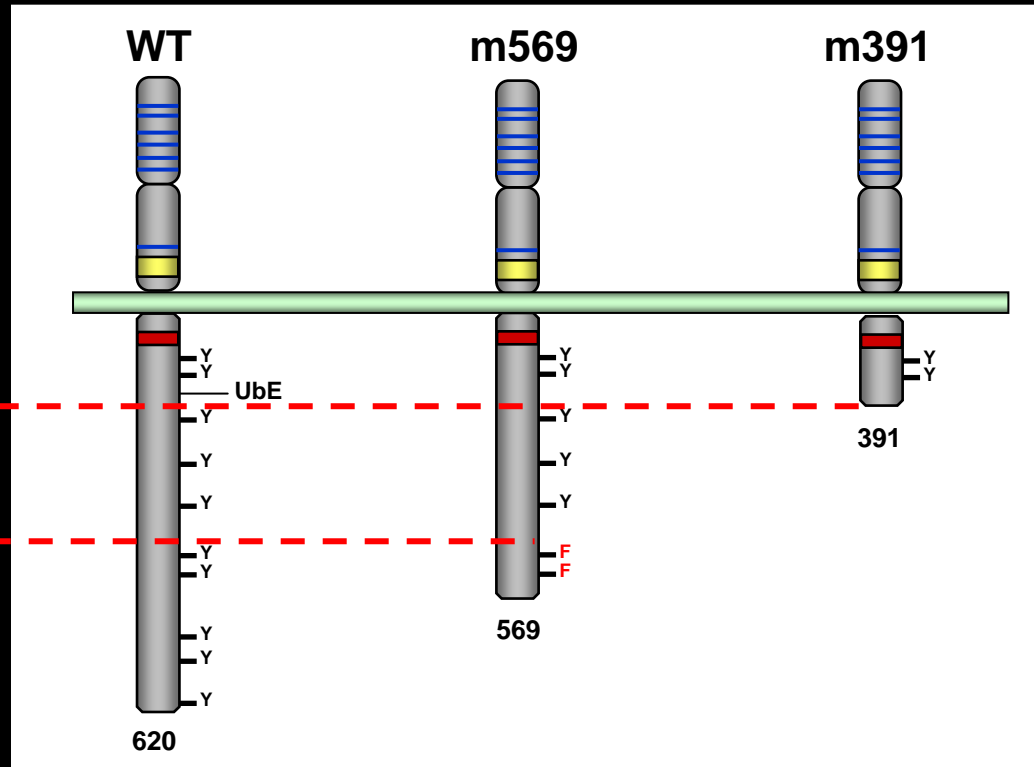
Récepteur

JAK2

STAT

Phosphorylés
sur Tyrosine

Cascades impliquées dans la croissance

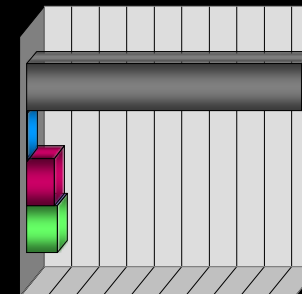
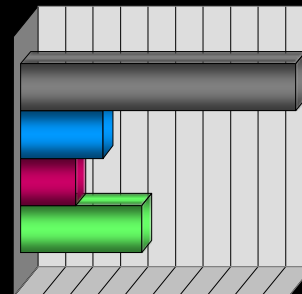
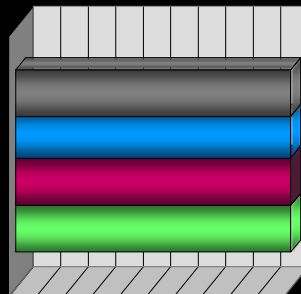


MAPK, Jak2
(+Stat3, PI3K, internalization)

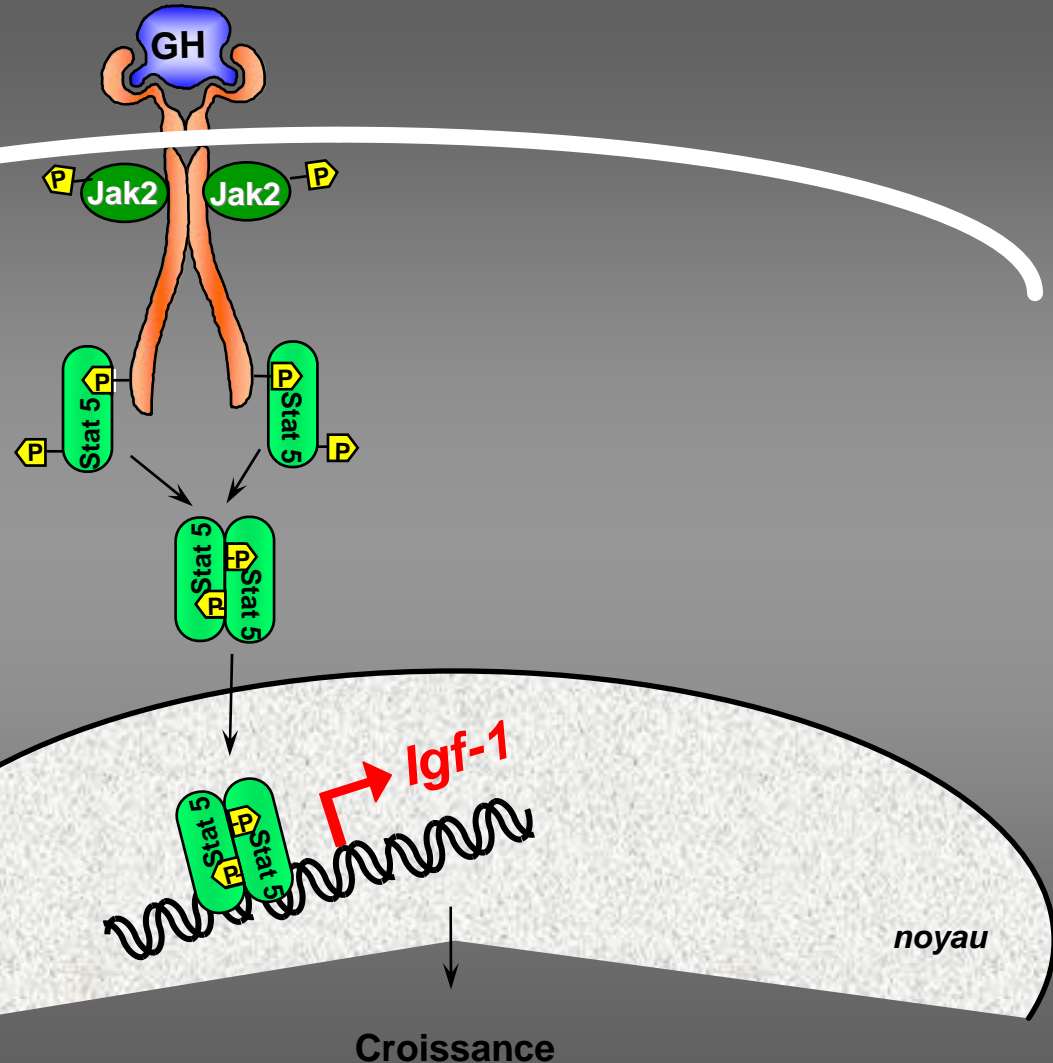
Stat5 → IGF-1

Stat5 → **IGF-1**

Activation MAPK
Activation Stat5
[IGF-1]
Croissance corporelle

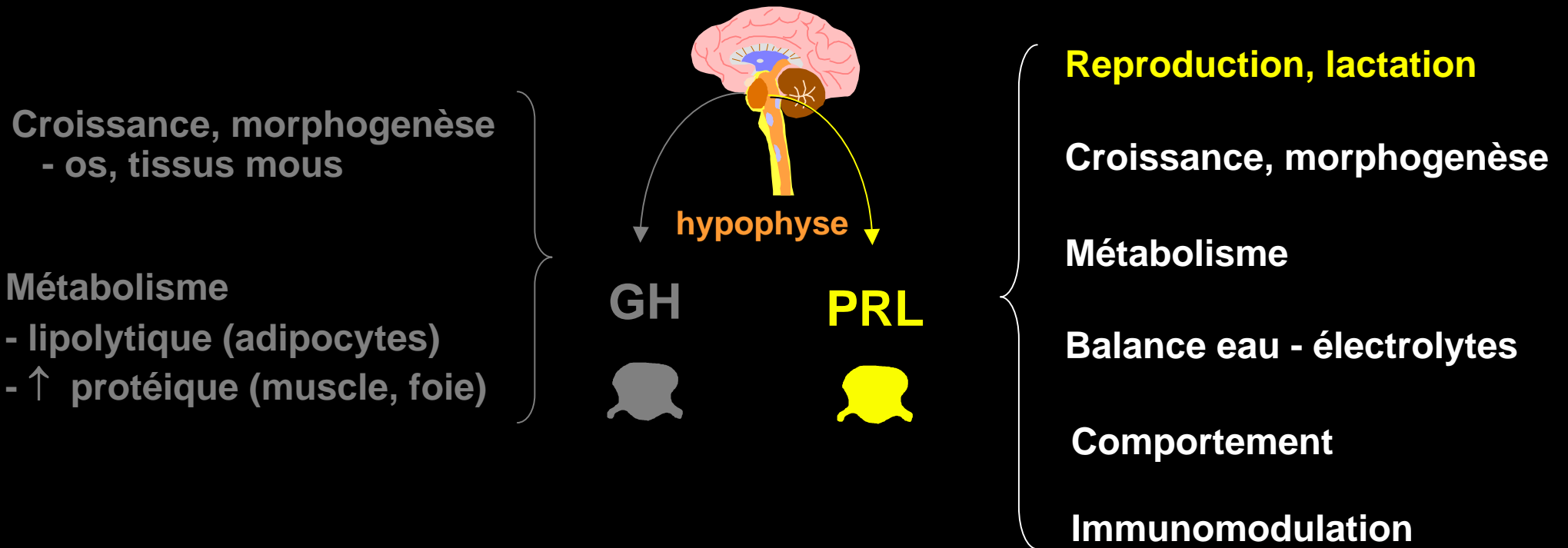


Cascades impliquées dans la croissance



La cascade
GHR / Jak2 / Stat5b
induit la transcription du
gène *igf-1*
(*insulin-like growth factor 1*)

Fonctions de la PRL



Nombreuses fonctions biologiques



Récepteurs exprimés dans de très nombreux tissus

Pathologies associées à la GH et la PRL

GH

Excès : Acromégalie

- Adénome à GH (somatotropes)

Déficit : Nanisme

- Mutations GHR ou GH

PRL

Excès : Hyperprolactinémie

- Adénome à PRL (lactotropes)

Déficit : ?

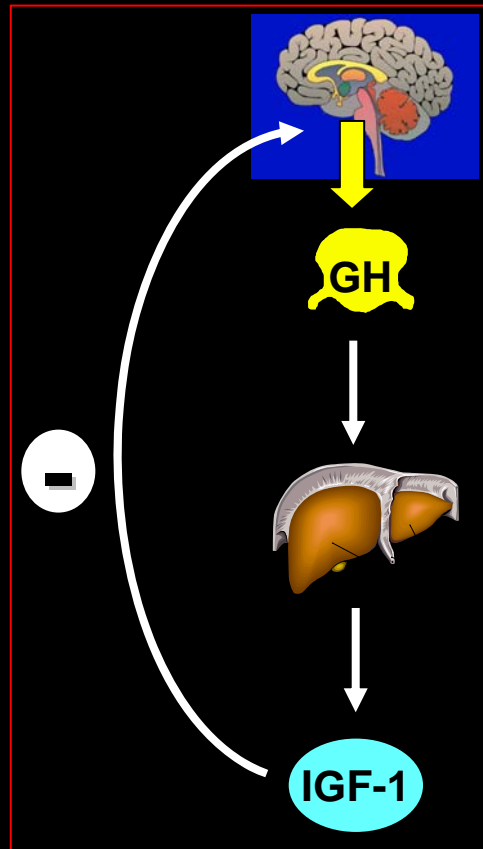
- PAS de maladie génétique connue

Résistance à la GH : mutations du GHR (syndrome de Laron)

1966 : Dr Z. Laron

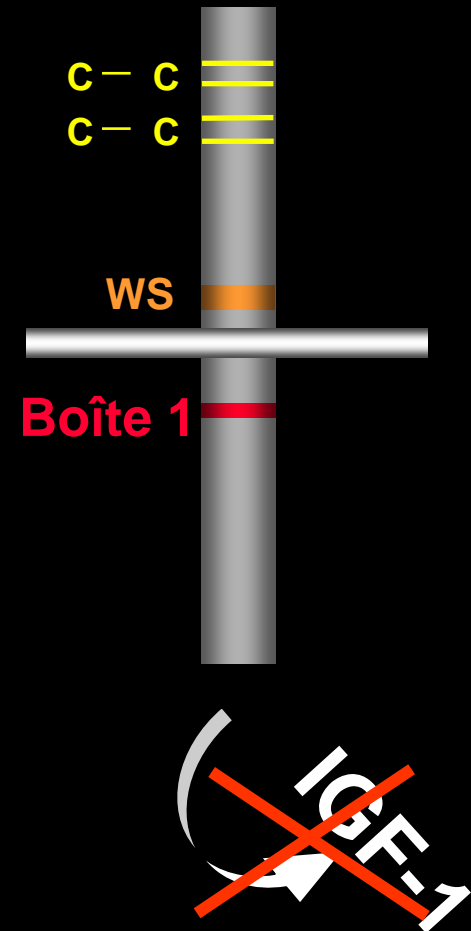
- [GH] élevée, [IGF-1] bas
- Déficience liée au GHR

Nombreuses mutations GHR différentes :



Extracellulaire
liaison
dimérisation

Intracellulaire
signalisation



Traitement (essais cliniques en cours):

Administration d'IGF-1
(second messenger GH)

Résistance à la GH : mutations du GHR (syndrome de Laron)

1966 : Dr Z. Laron

- [GH] élevée, [IGF-1] bas
- Déficience liée au GHR



The image shows a screenshot of the Tercica website, specifically the 'Medical Professionals' section. The header features the Tercica logo and the text 'Medical Professionals'. Below this, there is a navigation menu on the left with options: 'Company', 'Patients', 'Medical Professionals' (highlighted), 'Products', and 'Pipeline'. Under 'Products', 'Increlex™' is listed. The main content area is titled 'Product' and describes 'Increlex™ (mecasermin [rDNA origin] injection)'. The description states that Increlex™ is approved in the United States for the long-term treatment of growth failure in children with severe primary IGF-1 deficiency (Primary IGFD) or with growth hormone (GH) gene deletion who have developed neutralizing antibodies to growth hormone.

Company

Patients

Medical Professionals

Products

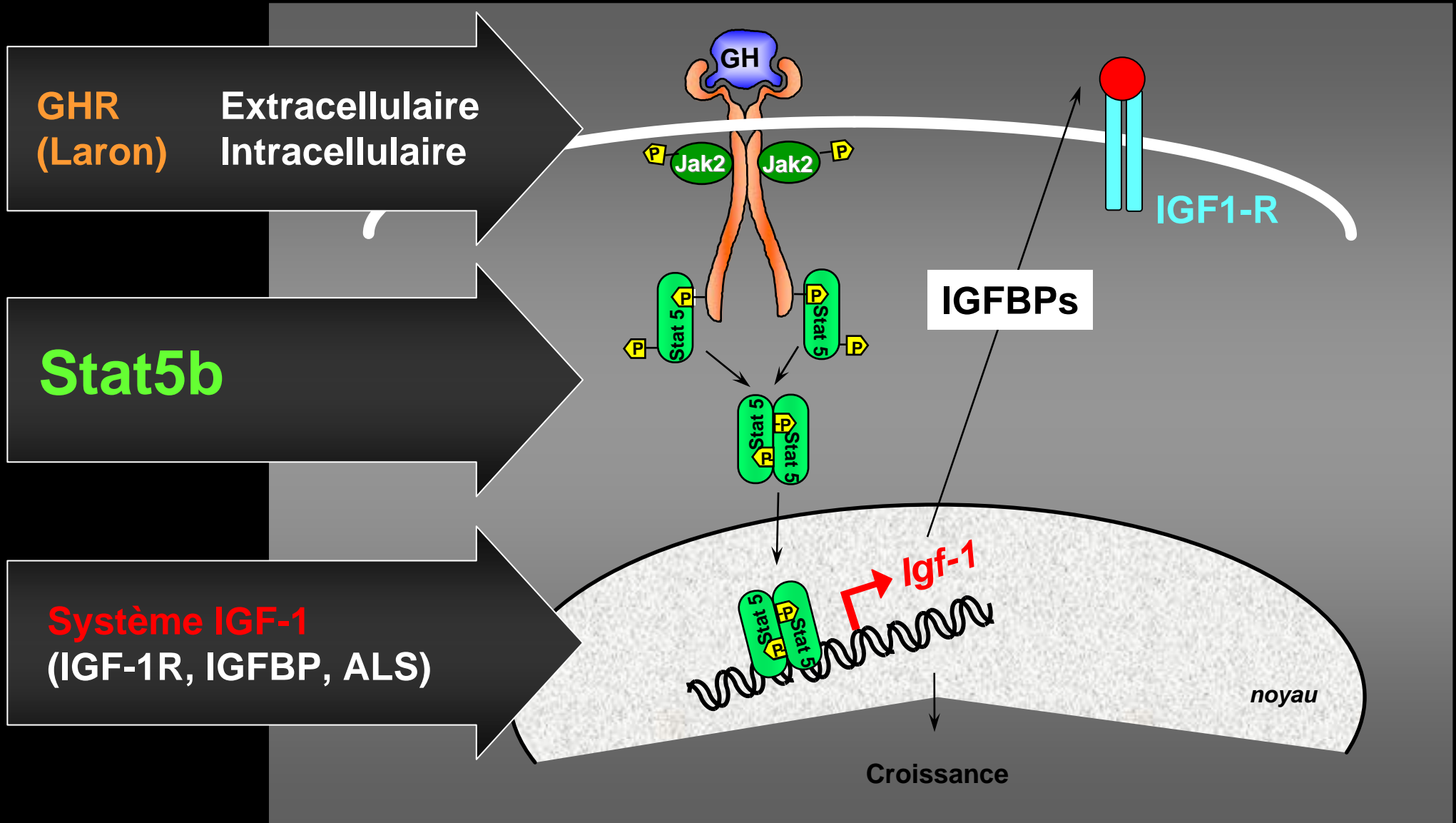
- Increlex™
- Somatuline® Depot
- Pipeline

Product

Increlex™ (mecasermin [rDNA origin] injection)

Increlex™ (mecasermin [rDNA origin] injection) is approved in the United States for the long-term treatment of growth failure in children with severe primary IGF-1 deficiency (Primary IGFD) or with growth hormone (GH) gene deletion who have developed neutralizing antibodies to growth hormone.

Résistance à la GH : mécanismes post-GHR



Mutations de Stat5b

6 Patients : 5 ♀ (3-16 ans) ; 1 ♂ (31 ans) – mutations homozygotes

Comme les Laron ...

- Petite taille (- 5,6 à 9,9 DS)
- IGF-1 : ↓↓
- GH : normale ou ↑

Sauf ...

- **GHR non muté !**
- PRL ↑ (= rôle de Stat5b dans régulation gène PRL)
- **Multiples déficits immunitaires** : infections pulmonaires, pneumonies, ...
(= Stat5B impliqué dans la signalisation de nombreuses cytokines)

Pathologies associées à la GH et la PRL

GH

Excès : Acromégalie

Adénome à GH (somatotropes)

↑ Mortalité

- Risques cardiovasculaires
- Cancers (?)

↑ Morbidité

- Maux de tête
- Troubles de la vision
- "Gonflement tissus", etc.

PRL

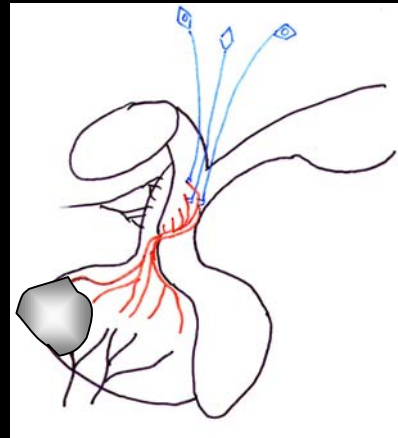
Excès : Hyperprolactinémie

Adénome à PRL (lactotropes)

↑ Morbidité

- Problèmes de fertilité
- Maux de tête
- Troubles de la vision
- etc.

Cancers (?)



GH ← **+** → **PRL**

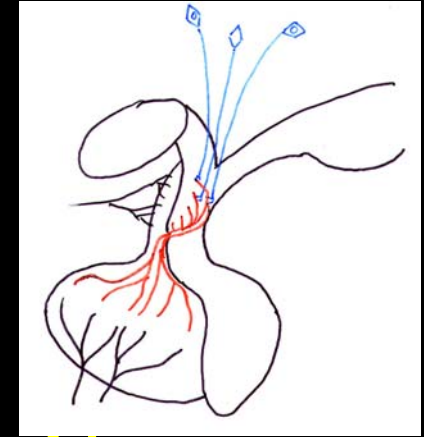
Adénomes à GH ou PRL : approches thérapeutiques

→ Inhiber la **synthèse** d'hormone

- PRL : agonistes **dopamine**
- GH : agonistes **somatostatine**

- Chirurgie (ablation de la tumeur)

Insatisfaisant dans certains cas

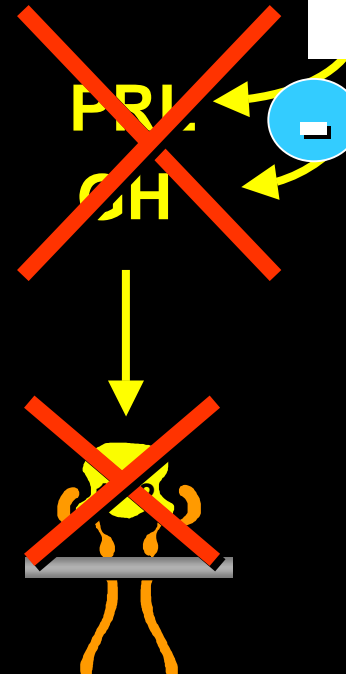


→ Inhiber la **fonction** de l'hormone

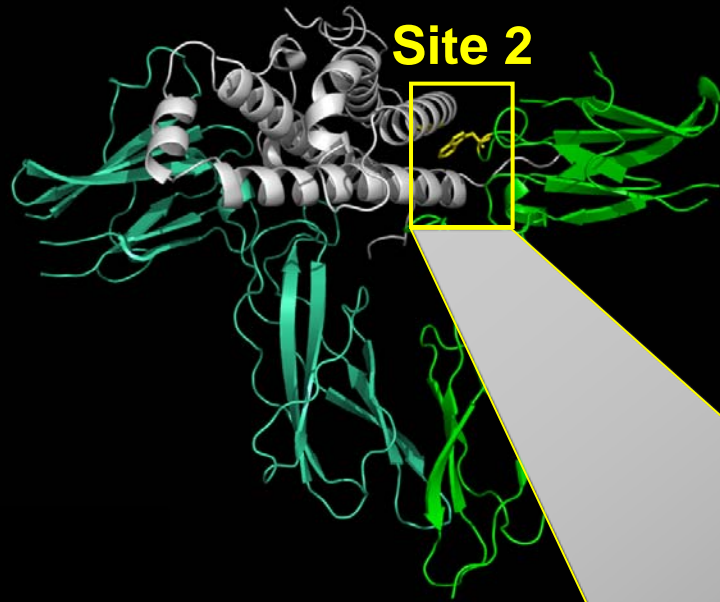
Antagonistes :

GH : **Pegvisomant**

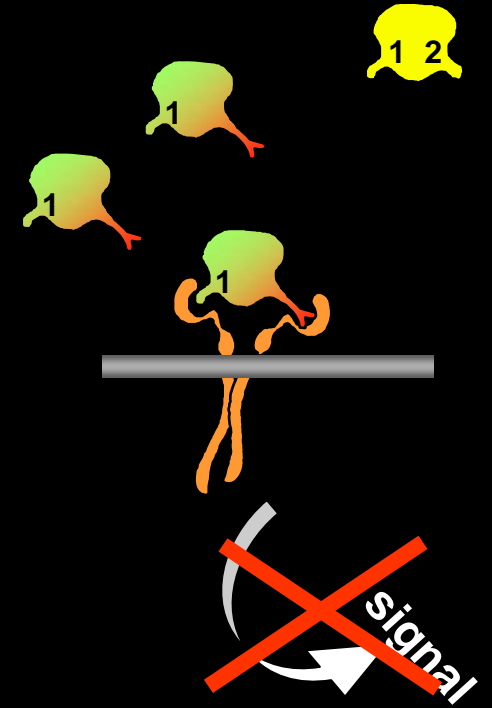
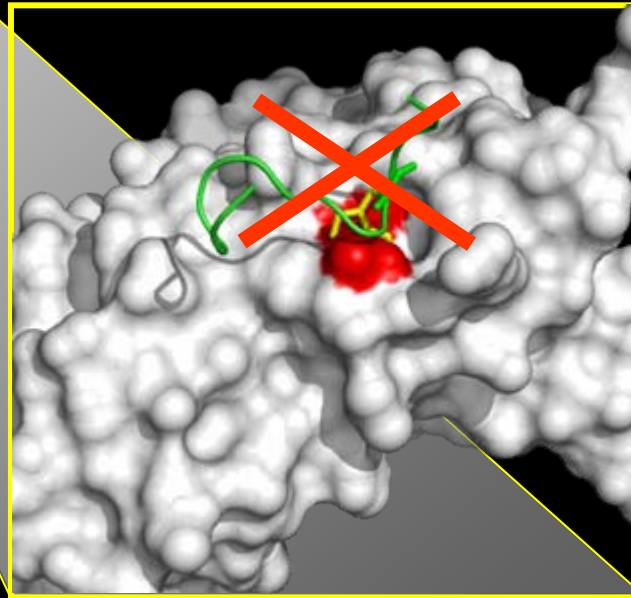
PRL : en cours au labo...



Développement d'antagonistes du GHR (Pegvisomant)



Gly₁₂₀ → Arg



De l'antagoniste hGH-G120R au Pegvisomant (Somavert)

↑ *demi-vie*

PEGylation

↑ taille
↓ immunogénicité

Spécificité pour GHR

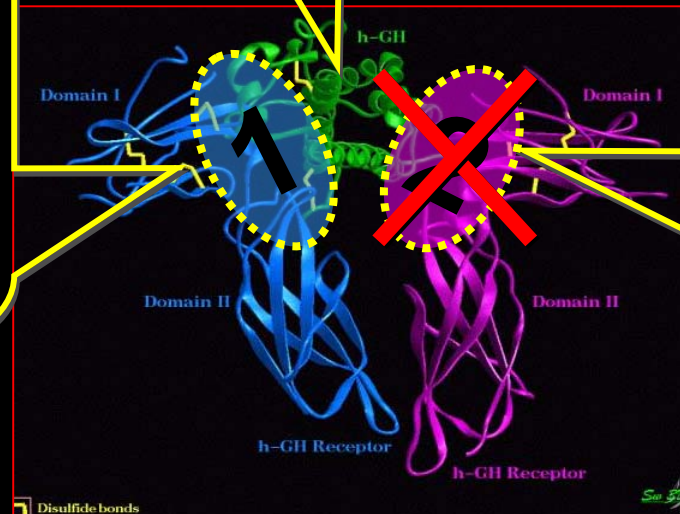
Propriétés antagonistes

8 mutations

↑ affinité pour GHR
↓ affinité pour PRLR

Mutation G120K

↓ dimérisation du GHR
↑ couplage PEG



De l'antagoniste hGH-G120R au Pegvisomant (Somavert)



FAQ's

[Description of Medical Areas](#)

[About the FDA Approved Listings](#)

Drugs Approved by the FDA

Drug Name: Somavert (pegvisomant)

The following information is obtained from various newswires, published medical journal articles, and medical conference presentations.

Company: Pharmacia
Approval Status: Approved March 2003
Treatment for: Acromegaly

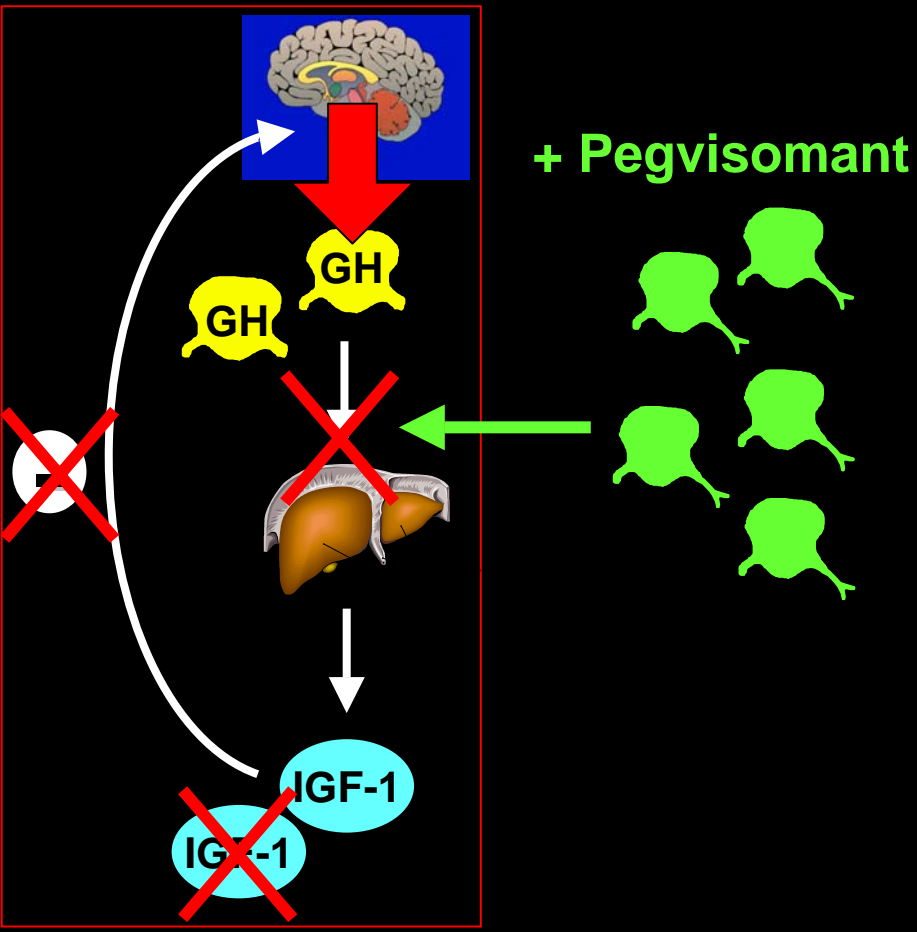
General Information

Somavert is the first in a new class of medicines called growth hormone receptor antagonists and the only medicine designed to specifically block the effects of excess growth hormone in acromegaly.

Somavert (pegvisomant), an analog of human growth hormone, is an injectable medication that has been structurally altered to act as a growth hormone (GH) receptor antagonist. Over production of growth hormone leads to abnormally high insulin-like growth factors (IGF-I), which then cause acromegaly like symptoms.

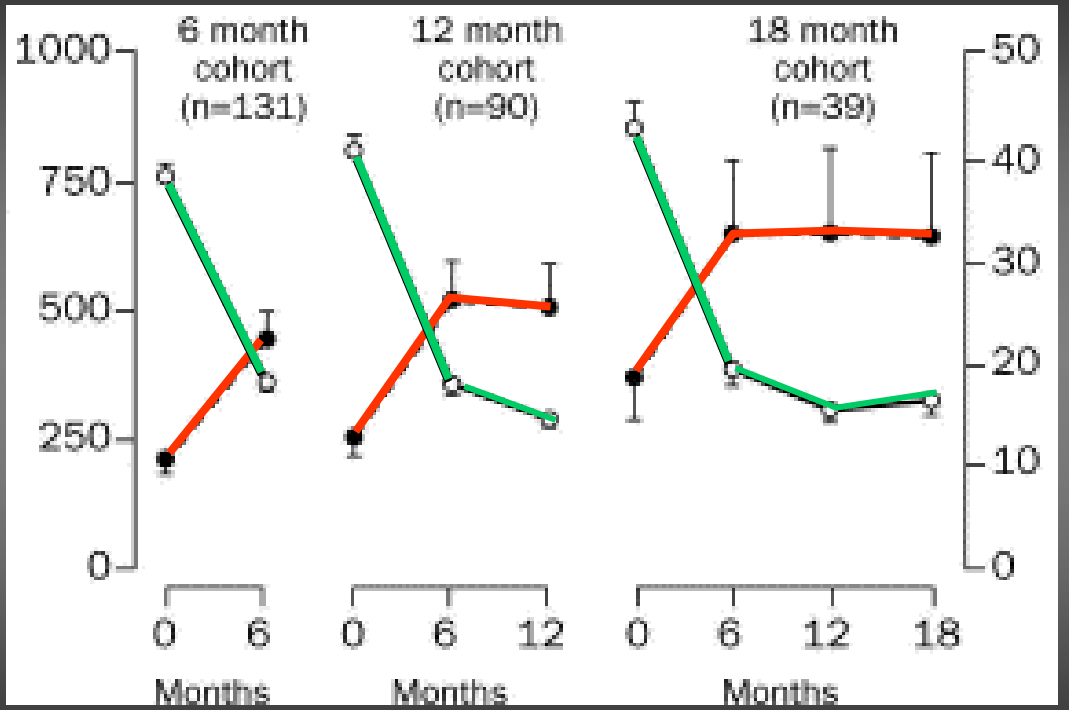
Somavert is indicated for the treatment of acromegaly in patients who have had an inadequate response to surgery and/or radiation therapy and/or

Taux de GH chez les patients traités



IGF-1

GH



diminution rétro-contrôle négatif de l'IGF-1

Question :

Evolution de la tumeur hypophysaire sous Pegvisomant?

GH autocrine et cancer

- La **GH systémique** exerce des actions **pro-tumorales** (sein, colon,...)
- **Synthèse extrahypophysaire de hGH**
 - Divers tissus, dont glande mammaire
 - Agit localement (non mesurable)

Message : GH autocrine ≠ GH systémique

Exactement la même protéine, mais...

- **REGULATION** inconnue ➔ pas de "drogue" type somatostatine
- **MECANISMES** d'actions spécifiques
- **ACTIONS BIOLOGIQUES** (partiellement) différentes

PRL, GH et cytokines : conclusions

Aspects moléculaires

- **ligands** :
Similarités structurales / fonctionnelles (4 hélices alpha)
PRL et GH: induisent homodimérisation des récepteurs → antagonistes
- **Récepteurs** :
Similarités structurales / fonctionnelles (2 feuilletts béta)
Activent de multiples voies de signalisation (JAK/STAT, MAPK, Src, ...)
PRLR et GHR : large distribution, beaucoup de tissus-cibles

Fonctions biologiques

- **GH** : croissance, métabolisme
- **PRL** : lactation, reproduction (indispensable), comportement, métabolisme, etc.

Pathologies

- Génétique : **GH** → ligand ou récepteur ; **PRL** → aucune connue à ce jour
- Adénomes hypophysaires : acromégalie, hyperprolactinémie
- Autres : tumeurs mammaires, prostatiques, etc (?)