



**HAL**  
open science

**Actine et annexine A2: Partenaires essentiels pour le contrôle de la sécrétion neuroendocrine [= Actin and annexin A2: essential partners for the control of neuroendocrine secretion].**

Marion Gabel, Franck Delavoie, Nicolas Vitale, Marie-France Bader, Sylvette Chasserot

► **To cite this version:**

Marion Gabel, Franck Delavoie, Nicolas Vitale, Marie-France Bader, Sylvette Chasserot. Actine et annexine A2: Partenaires essentiels pour le contrôle de la sécrétion neuroendocrine [= Actin and annexin A2: essential partners for the control of neuroendocrine secretion].. Médecine/Sciences, 2016, 32 (6-7), pp.553-555. 10.1051/medsci/20163206008 . hal-02628403

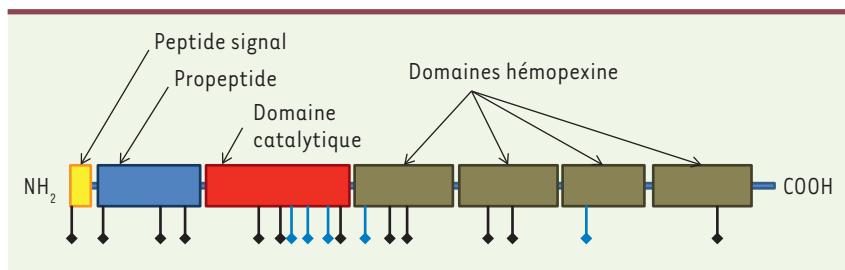
**HAL Id: hal-02628403**

**<https://hal.science/hal-02628403>**

Submitted on 26 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Figure 2.** Schéma indiquant les différents domaines de la métalloprotéase MMP21. L'emplacement des mutations est symbolisé en-dessous de la protéine, avec en noir les mutations de l'article de Guimier *et al.* [5], et en bleu les mutations rapportées dans deux autres articles [6, 7].

### Conclusion

Cette étude a mis en évidence pour la première fois le rôle d'une métalloprotéase dans la latéralisation de la plupart des vertébrés. Le substrat de cette métalloprotéase est à ce jour inconnu. La prévalence élevée (5,9 %) de mutations de *MMP21* dans notre groupe de patients atteints d'hétérotaxie avec ou sans malformation cardiaque place ce gène en première position des gènes responsables d'hétérotaxie devant le gène *ZIC3* (*zic family member 3*, environ

3 % des cas). La pénétrance, quoique incomplète, est très élevée (environ 90 % dans notre groupe de patients) et donc bien supérieure à la pénétrance de l'hétérotaxie lorsqu'un gène codant une protéine du cil embryonnaire est impliqué (pénétrance de 50 %). ♦

### A gene coding for a metalloprotease for the first time implied in heterotaxy

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## NOUVELLE

### Actine et annexine A2

#### Partenaires essentiels pour le contrôle de la sécrétion neuroendocrine

Marion Gabel<sup>1</sup>, Franck Delavoie<sup>2</sup>, Nicolas Vitale<sup>1</sup>, Marie-France Bader<sup>1</sup>, Sylvette Chasserot-Golaz<sup>1</sup>

Le fonctionnement des systèmes nerveux et neuroendocrine repose sur une communication cellulaire élaborée soutenue par un trafic membranaire intense. Les molécules impliquées dans cette communication sont stockées dans des granules de sécrétion et libérées dans le milieu extracellulaire par fusion des granules avec la membrane plasmique, un processus appelé exocytose régulée [1]. Dans les cellules neuroendocrines, l'arrimage des granules de sécrétion à la membrane plasmique,

puis leur fusion, se font au niveau de sites membranaires dont l'architecture est portée par des lipides spécifiques. Ces domaines lipidiques, aussi appelés radeaux lipidiques, correspondent aux sites d'exocytose de la membrane plasmique et peuvent se former de façon transitoire selon l'état d'activation des cellules [2]. Ils recrutent, activent ou séparent les acteurs de l'exocytose comme les protéines du complexe SNARE (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*),

## RÉFÉRENCES

- Bajolle F, Zaffran S. Le débit cardiaque, acteur majeur de la morphogénèse asymétrique des arcs aortiques. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 354-6.
- Diguet N, Meilhac SM. Cils et morphogénèse cardiaque. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 996-1003.
- Bachmann-Gagescu R. Complexité génétique des ciliopathies et identification de nouveaux gènes. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 1011-23.
- Liu H, Jimenez G, El Malti R, *et al.* Défauts de latéralisation et hétérotaxie. *EMC-Cardiologie* 2014 ; 9 : 1-14.
- Guimier A, Gabriel GC, Bajolle F, *et al.* MMP21 is mutated in human heterotaxy and is required for normal left-right asymmetry in vertebrates. *Nat Genet* 2015 ; 47 : 1260-3.
- Akawi N, McRae J, Ansari M, *et al.* Discovery of four recessive developmental disorders using probabilistic genotype and phenotype matching among 4,125 families. *Nat Genet* 2015 ; 47 : 1363-9.
- Perles Z, Moon S, Ta-Shma A, *et al.* A human laterality disorder caused by a homozygous deleterious mutation in MMP21. *J Med Genet* 2015 ; 52 : 840-7.
- Ahokas K, Lohi J, Lohi H, *et al.* Matrix metalloproteinase-21, the human orthologue for XMMP, is expressed during fetal development and in cancer. *Gene* 2002 ; 301 : 31-41.
- Li Y, Klena NT, Gabriel GC, *et al.* Global genetic analysis in mice unveils central role for cilia in congenital heart disease. *Nature* 2015 ; 521 : 520-4.
- Tremblay JP. CRISPR, un système qui permet de corriger ou de modifier l'expression de gènes responsables de maladies héréditaires. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 1014-22.

<sup>1</sup> Institut des neurosciences cellulaires et intégratives, CNRS - UPR 3212 et université de Strasbourg, 5, rue Blaise Pascal, F-67084, Strasbourg, France.

<sup>2</sup> Laboratoire de biologie moléculaire eucaryote, UMR5099 CNRS-université de Toulouse III Paul Sabatier, 118, route de Narbonne, F-31000, Toulouse, France.

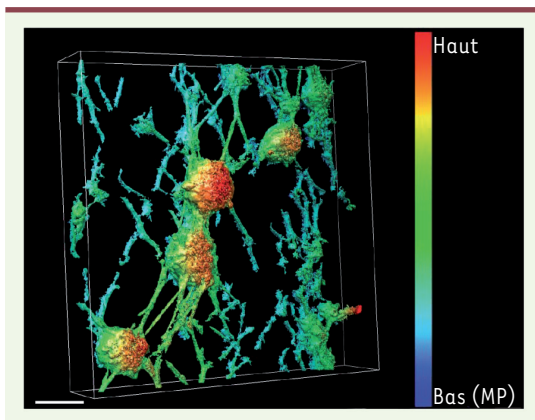
chasserot@inci-cnrs.unistra.fr

nécessaires à l'arrimage et à la fusion des granules à la membrane plasmique [3, 4] (→).

L'annexine A2 a été l'une des premières protéines identifiées au niveau des sites d'exocytose [5]. Elle fait partie

(→) Voir la Synthèse de T. Galli *et al.*, *m/s* n° 11, novembre 2002, page 1113 et la Nouvelle de O. El Far et M. Seagar, *m/s* n° 1, janvier 2011, page 28

de la famille des annexines, protéines capables de s'associer aux membranes biologiques en présence de calcium. Une des particularités de l'annexine A2



**Figure 1. Organisation du cytosquelette d'actine au niveau des sites d'exocytose dans une cellule chromaffine.** Représentation en trois dimensions obtenue par tomographie électronique de granules de sécrétion ancrés à la membrane plasmique dans une cellule chromaffine stimulée par un secrétagogue. L'échelle de fausses couleurs correspond aux différents plans tomographiques, le plan le plus

bas représente la membrane plasmique (MP en bleu). Barre : 100 nm.

est sa capacité à lier simultanément les phospholipides et le cytosquelette d'actine [6], deux acteurs majeurs de l'exocytose. Bien que de nombreuses études aient suggéré un rôle important de l'annexine A2 au cours de l'exocytose, sa fonction précise est restée longtemps énigmatique. Dans des cellules chromaffines<sup>1</sup>, modèle classiquement utilisé pour étudier les modalités moléculaires de la sécrétion neuroendocrine, nous avons montré que l'annexine A2 est à l'origine de domaines lipidiques, riches en ganglioside<sup>2</sup> GM1 et en phosphoinositides, nécessaires à l'exocytose [7, 8]. Nos travaux récents révèlent comment l'annexine A2, en établissant un étroit partenariat avec le cytosquelette d'actine, forme des plateformes lipidiques dont le rôle est le recrutement spatio-temporel des différents acteurs de l'exocytose [9].

### Un nouveau rôle pour le cytosquelette d'actine au cours de la sécrétion neuroendocrine

Le cytosquelette d'actine est un acteur majeur de la sécrétion neuroendocrine. Dans les cellules au repos, l'actine forme un réseau dense de filaments, sous la membrane plasmique, qui

constitue une barrière physique dont la fonction classique est d'empêcher le recrutement inopiné des granules à la membrane plasmique. Différentes études fonctionnelles, basées sur la détection de filaments d'actine au niveau des sites d'exocytose dans les cellules chromaffines, suggèrent que l'exocytose nécessite aussi une intervention active de l'actine [10]. Nous avons récemment mis au point une technique permettant d'observer au microscope électronique la face cytoplasmique de la membrane plasmique d'une cellule chromaffine en cours d'exocytose. Les images en trois dimensions de ces feuilletts membranaires révèlent des granules de sécrétion arrimés à la membrane plasmique par des câbles d'actine au niveau de domaines lipidiques enrichis en ganglioside GM1 (Figure 1). Ces images inédites nous ont permis d'observer pour la première fois l'organisation de l'actine au voisinage des sites d'exocytose. Différentes structures apparaissent : des filaments d'actine parallèles à la membrane plasmique (Figure 1, en bleu) dont le rôle pourrait être de former et/ou de stabiliser la plateforme lipidique ; des filaments de type cordons, plus épais, semblant ancrer le granule à la membrane plasmique (Figure 1, en vert) ; et finalement un manteau d'actine recouvrant partiellement la surface du granule (Figure 1, en rouge). Ces structures d'actine semblent constituer

un réseau dynamique autour du granule de sécrétion pour permettre le bon déroulement des différentes étapes de l'exocytose [11]. De fait, la possibilité de mesurer la sécrétion à l'échelle d'un granule par la technique d'ampérométrie<sup>3</sup>, nous a permis d'obtenir des données fonctionnelles indiquant la participation de l'actine, non seulement au recrutement et à la fusion des granules de sécrétion à la membrane plasmique, mais aussi directement à la libération du contenu granulaire, vraisemblablement en compressant, telle une éponge, les granules ancrés à la membrane.

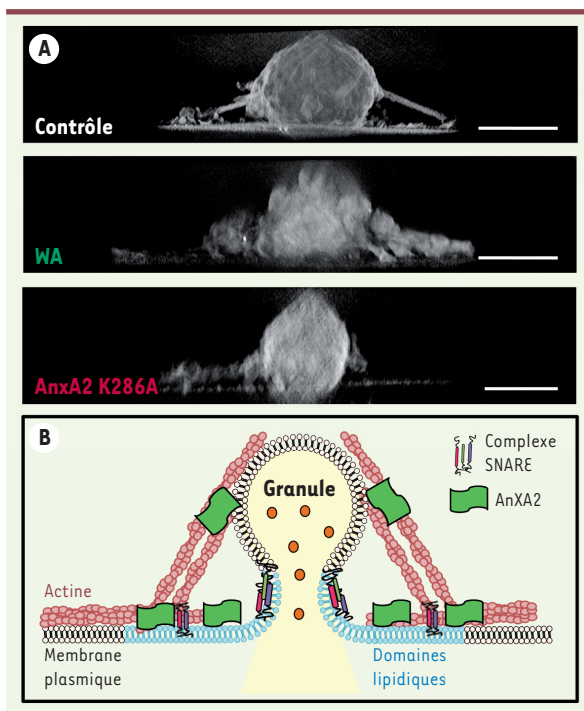
### L'annexine A2, protéine-clé pour une mise en place des sites d'exocytose

L'annexine A2 est capable, en présence de calcium, d'assembler plusieurs filaments d'actine pour en faire des câbles et des faisceaux. Nous avons donc étudié si cette propriété de fasciculation de l'actine pouvait être en lien avec la formation des plateformes lipidiques nécessaires à la sécrétion. Deux approches complémentaires ont été choisies pour tenter de répondre à cette question : d'une part, une approche pharmacologique utilisant la withaférine A, une lactone extraite de *Withania somnifera*, généralement utilisée dans le traitement de certains cancers et des troubles neurologiques, et qui stimule l'activité de fasciculation de l'actine de l'annexine A2 ; et d'autre part, une approche génétique basée sur l'expression d'un mutant de l'annexine A2 (AnxA2K286A) incapable de former des faisceaux d'actine. L'observation de feuilletts membranaires de cellules chromaffines, exposées à la withaférine A ou exprimant le mutant AnxA2K286A de l'annexine A2, montre que le réseau

<sup>1</sup> Les cellules chromaffines sont des cellules neuroendocrines présentes dans les glandes médullosurrénales et dans les ganglions du système nerveux sympathique. Elles tirent leur nom de la coloration qu'elles prennent en présence de sels de chrome.

<sup>2</sup> Lipides de la famille des glycosphingolipides.

<sup>3</sup> Méthode électrochimique permettant d'enregistrer les événements d'exocytose sur cellule unique. Une électrode en fibre de carbone, maintenue à un potentiel imposé de 800 mV permettant l'oxydation des catécholamines, est appliquée sur la surface de la cellule pour mesurer le courant électrique produit par l'oxydation des catécholamines libérées dans le milieu [12].



**Figure 2. Formation de faisceaux d'actine par l'annexine A2 au cours de l'exocytose.** **A.** Granules de sécrétion arrimés à la membrane plasmique stimulée (contrôle), traitée à la Withaférine A (WA) ou exprimant le mutant de l'annexine A2 (AnxA2 K286A). Vues de profil obtenues par tomographie électronique. Barre : 200 nm. **B.** Représentation schématique du mode d'action de l'annexine A2 au cours de l'exocytose.

d'actine au niveau des sites d'exocytose est altéré (Figure 2A). La stimulation de l'activité de fasciculation de l'annexine A2 par la withaférine A épaissit les faisceaux d'actine entourant les granules arrimés à la membrane plasmique. À l'inverse, l'expression du mutant d'annexine A2 dépourvu d'activité de fasciculation produit une désorganisation de l'actine et une disparition des filaments d'ancrage des granules de sécrétion à la membrane plasmique. En parallèle, la formation des domaines lipidiques et l'activité d'exocytose sont modifiées. Une stimulation de la fasciculation de l'actine par l'annexine A2 conduit à une augmentation du nombre de domaines lipidiques et de granules ancrés à la membrane plasmique, et à une accélération de l'étape de fusion. À l'inverse, l'incapacité de l'annexine A2 à former des faisceaux d'actine se traduit par une réduction de la formation de domaines lipidiques et du nombre d'événements d'exocytose. L'activité de fasciculation de l'actine par l'annexine A2 joue ainsi un rôle déterminant dans la mise en place des plateformes lipidiques et la cinétique des étapes de l'exocytose [11].

### Conclusions et perspectives

Cette première description tridimensionnelle des faisceaux d'actine formés par l'annexine A2 au niveau des sites d'exocytose représente une avancée majeure dans la compréhension des étapes ultimes de la sécrétion neuroendocrine. La formation de faisceaux d'actine par l'annexine A2, en limitant possiblement la mobilité et la diffusion latérale dans la membrane plasmique, joue ainsi un rôle essentiel dans la formation des domaines lipidiques, l'assemblage et/ou la maturation des sites d'exocytose (modèle présenté en Figure 2B). Cette fonction confère à l'annexine A2 un rôle pivot de régulateur de l'activité sécrétrice et de la libération hormonale.

Élucider le rôle de l'annexine A2 dans les circuits de l'exocytose complète nos connaissances des mécanismes de la sécrétion neuroendocrine et de la neurotransmission, et, plus généralement, permet de comprendre les mécanismes de formation et de régulation des domaines lipidiques dans les membranes biologiques. Il est évident que ces mécanismes sont directement couplés au contrôle spatial et temporel de la

transduction du signal. La compréhension de la genèse de ces domaines lipidiques au niveau moléculaire représente une avancée majeure en neurobiologie, particulièrement pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques afin de traiter certaines neuropathologies [13]. ♦

### Actin and annexin A2: essential partners for the control of neuroendocrine secretion

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Jahn R, Fasshauer D. Molecular machines governing exocytosis of synaptic vesicles. *Nature* 2012 ; 490 : 201-7.
2. Chamberlain LH, Burgoyne RD, Gould GW. SNARE proteins are highly enriched in lipid rafts in PC12 cells: implications for the spatial control of exocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 5619-24.
3. Galli T, Martinez-Arcal S, Paumet F. Mécanisme de la fusion membranaire. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 1113-9.
4. El Far O, Seagar M. SNARE, V-ATPase et neurotransmission. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 28-31.
5. Nakata T, Sobue K, Hirokawa N. Conformational change and localization of calpactin I complex involved in exocytosis as revealed by quick-freeze, deep-etch electron microscopy and immunocytochemistry. *J Cell Biol* 1990 ; 110 : 13-25.
6. Bharadwaj A, Bydoun M, Holloway R, Waisman D. Annexin A2 heterotetramer: structure and function. *Int J Mol Sci* 2013 ; 14 : 6259-305.
7. Chasserot-Golaz S, Vitale N, Umbrecht-Jenck E, et al. Annexin 2 promotes the formation of lipid microdomains required for calcium-regulated exocytosis of dense-core vesicles. *Mol Biol Cell* 2005 ; 16 : 1108-19.
8. Umbrecht-Jenck E, Demais V, Calco V, et al. S100A10-mediated translocation of annexin-A2 to SNARE proteins in adrenergic chromaffin cells undergoing exocytosis. *Traffic* 2010 ; 11 : 958-71.
9. Menke M, Gerke V, Steinem C. Phosphatidylserine membrane domain clustering induced by annexin A2/S100A10 heterotetramer. *Biochemistry* 2005 ; 44 : 15296-303.
10. Gutierrez LM. New insights into the role of the cortical cytoskeleton in exocytosis from neuroendocrine cells. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012 ; 295 : 109-37.
11. Gabel M, Delavoie F, Demais V, et al. Annexin A2-dependent actin bundling promotes secretory granule docking to the plasma membrane and exocytosis. *J Cell Biol* 2015 ; 210 : 785-800.
12. Mosharov EV, Sulzer D. Analysis of exocytotic events recorded by amperometry. *Nat Methods* 2005 ; 2 : 651-8.
13. Schengrund CL. Lipid rafts: keys to neurodegeneration. *Brain Res Bull* 2010 ; 82 : 7-17.