

Les inhibiteurs de croissance des cellules mammaires

Le développement de la croissance et de la différenciation des tissus épithéliaux dans la glande mammaire est un processus à plusieurs étapes commandé par une combinaison de facteurs paracrines et autocrines et par l'interaction de la cellule glandulaire avec la matrice extracellulaire. Dans la glande mammaire ces interactions sont réglées par les œstrogènes, la progestérone, la prolactine, le cortisol et l'hormone de croissance. L'équilibre constant entre ces effecteurs permet un déroulement harmonieux de toutes les phases d'évolution de la glande mammaire au cours de la vie génitale normale. Mais il arrive que ces mécanismes soient mal contrôlés ou dérégulés, avec pour conséquence l'apparition de mastopathies bénignes, ou de carcinomes malins du sein. Or, ces proliférations malignes sont, pour des raisons encore inexplicables, en augmentation constante dans les pays développés où on compte qu'une femme sur sept a un risque de développer un cancer du sein au cours de sa vie. C'est dire tout l'intérêt que revêt l'identification d'inhibiteurs naturels du développement de la glande mammaire et de la croissance tumorale [1].

Le MDGI

Plusieurs de ces facteurs ont été caractérisés, parmi lesquels le plus étudié est le MDGI (*mammary derived growth inhibitor*) [2, 3]. Il s'agit d'un petit polypeptide de 15kDa isolé de glande mammaire en lactation ou de cellules d'ascite d'Ehrlich provenant de carcinomes mammaires. Ce facteur a des propriétés remarquables dans la mesure où ses effets sont à la

fois inhibiteurs de la croissance mammaire et activateurs de la différenciation glandulaire (*Tableau I*) [4]. En ce qui concerne ses effets inhibiteurs, on constate qu'il entraîne une baisse de près de 60% du taux de synthèse de l'ADN au cours de la croissance mammaire et un arrêt de la croissance des cellules épithéliales normales (*mammary epithelial cells* ou MEC), sans altération des cellules du stroma; il bloque aussi, mais de façon partielle, la transformation maligne des cellules mammaires (*figure 1*) [5]. En revanche, ce facteur exerce un rôle majeur dans le développement glandulaire au cours de la croissance embryonnaire, effet qui s'arrête au moment de la puberté [6]. Dans les glandes différenciées, la synthèse du MDGI est faible dans les cellules épithéliales des canaux, mais est importante dans les cellules des alvéoles en développement. Dans la glande en lactation le gène *MDGI* s'exprime de façon maximale aussi bien dans les cellules des canaux que dans les cellules alvéolaires [7]. Les glandes mammaires traitées par le MDGI présentent des lobules alvéolaires mono-

couches actifs avec une lumière agrandie et cet état différencié s'accompagne de l'apparition de β -caséine intracellulaire et canaliculaire (*figure 1*) [7]. Ce facteur a une très grande analogie de séquence avec la protéine du cœur fixant les acides gras, la H-FABP (*heart fatty acid binding protein*) [8], et dérive du même gène [9]. Il ne semble pas dans le cas du MDGI que les acides gras présents sur H-FABP exercent une quelconque action biologique, puisque les onze résidus carboxy-terminaux du MDGI sont suffisants pour promouvoir les mêmes effets biologiques que la protéine entière [5]. Comme l'on sait que les gènes codant pour des facteurs inhibiteurs sont des gènes suppresseurs de tumeurs candidats [10], un tel rôle a été recherché et mis en évidence pour le gène *MDGI*. Il s'avère, en effet, que l'expression du gène *MDGI* dans les lignées cancéreuses MCF-7 s'accompagne d'un changement complet du phénotype cellulaire qui devient différencié. Ce gène a été localisé sur le chromosome 1p33-35 [11]. Il est le siège d'une fré-

Tableau I					
MODE D'ACTION DES INHIBITEURS DE CROISSANCE DES CELLULES MAMMAIRES					
	MDGI	TGF- β 1	TNF- α	Mammastatine	IGFBP
Inhibition de la prolifération	++	++	++	+++	+++
Différenciation	++++	+	+	-	-
Sécrétion de β -caséine	+++	--	---	0	0

MDGI: mammary derived growth inhibitor, TGF- β 1: transforming growth factor 1; TNF- α : tumor necrosis factor; IGFBP: insulin-like growth factor binding-protein. Le nouvel inhibiteur n'a pas été indiqué car non encore identifié.

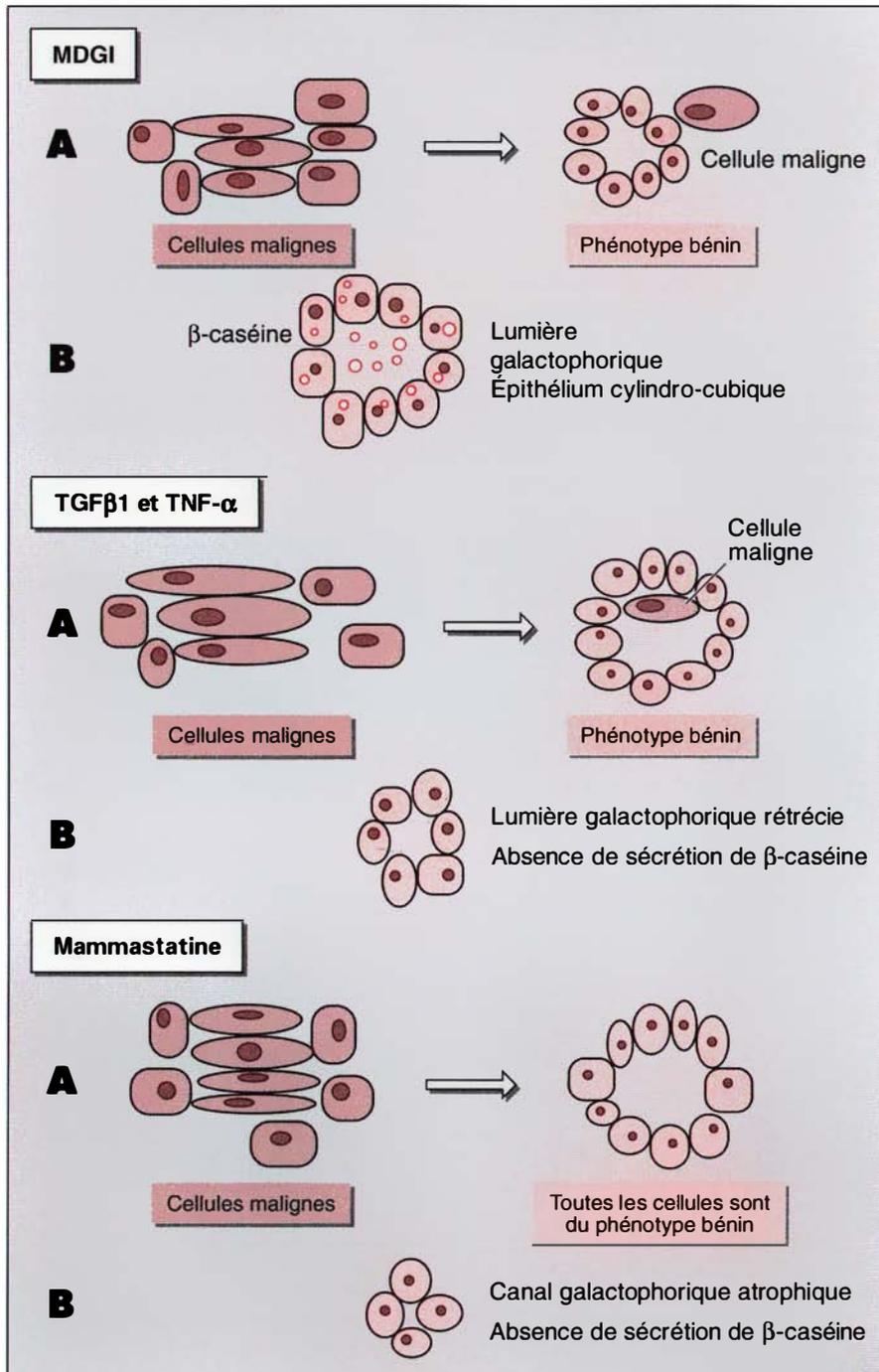


Figure 1. **Schéma des actions du MDGI (mammary derived growth inhibitor), du TGF-β1 (transforming growth factor 1), du TNF-α (tumor necrosis factor) et de la mammastatine.** A. Effets sur la prolifération cellulaire. B. Effets sur la différenciation tissulaire. On notera l'effet total de réversion de la malignité par la mammastatine et sa faible action trophique sur les canaux galactophores. Ces études ont été faites *ex vivo*, sur des cultures cellulaires dérivées de tumeurs mammaires.

quente perte d'hétérozygotie ; on peut la rencontrer dans près de 40 % des cancers sporadiques du sein.

C'est dire l'importance probable de la fonction de ce gène dans la suppression des carcinomes mammaires.

Celle-ci pourrait être identique à celle d'autres gènes suppresseurs de tumeurs mammaires comme *RB*, *P53* ou *H19* [12].

Les facteurs de la famille TGF-β

Les facteurs de croissance de la famille TGF-β (*transforming growth factors β*) ont des analogies d'action avec le MDGI, notamment le facteur TGF-β1. Comme le MDGI, TGF-β1 n'affecte pas la croissance épithéliale durant les derniers stades de développement avant la lactation. En revanche, le TGF-β1 inhibe fortement la croissance canalaire chez les souris vierges. De plus il empêche le développement alvéolaire de la glande mammaire en lactation en inhibant la formation de β-caséine et de WAP (*whey acidic protein*) chez les souris *ex vivo* [13] et *in vivo* (Tableau I et figure 1) [14].

Le TNF-α

Un troisième inhibiteur mammaire est le *tumor necrosis factor α* (TNF-α) qui joue un effet paracrine dans le développement et la prolifération des cellules épithéliales mammaires. Ce petit polypeptide de 17 kDa, connu comme cytokine ayant des effets pléiotropes sur un grand nombre de cellules, tire son intérêt du fait qu'il a un rôle inhibiteur sur les cellules cancéreuses mammaires. Le TNF-α peut induire aussi une inhibition sur la différenciation lobulaire en absence d'EGF (*epidermal growth factor*). En effet, le TNF-α a un rôle inhibiteur important sur la production de β-caséine par les cellules glandulaires du sein et cet effet est fonction de la dose. Mais comme le MDGI, le TNF-α a une action positive sur la croissance et la différenciation des cellules épithéliales mammaires [15].

Il apparaît donc que ces trois inhibiteurs possèdent des analogies d'action, notamment en ce qui concerne leur rôle inhibiteur sur la croissance tumorale. Toutefois, à cette action vient s'ajouter un effet plus ou moins important sur la différenciation de la glande mammaire, qui est maximal pour le MDGI (Tableau I et figure 1).

La mammastatine

Une autre protéine de 65 kDa, appelée mammastatine, a été isolée à partir de cellules mammaires humaines dont elle est spécifique [16]. Elle doit son nom à son activité inhibitrice sur les cellules mammaires humaines transformées, qu'elles soient dépendantes ou non dépendantes des œstrogènes. En revanche, elle n'a pas d'action sur les lignées transformées d'autres tissus. La mammastatine se distingue donc des autres inhibiteurs par sa spécificité tissulaire humaine et par son poids moléculaire élevé.

IGF et IGFBP

Parmi les facteurs de croissance ayant un effet mitogène puissant, on trouve les IGF-1 et -2 (*insulin-like growth factors*). Mais les IGF ne sont pas libres dans le plasma et sont liés aux IGFBP (*insulin-like growth factor binding proteins*) avec lesquels ils forment un complexe de 150 kDa [17]. Ces IGFBP constituent une famille de six membres dont les plus importants dans l'inhibition des cancers du sein sont l'IGFBP-1 et l'IGFBP-3. L'IGFBP-1 inhibe la synthèse d'ADN induite par IGF-1 et IGF-2 et cette activité antimitotique serait liée à sa phosphorylation qui lui permet de se lier avec une plus forte affinité à l'IGF. En outre, aussi bien l'excès exogène d'IGFBP-1 que la transfection dans les lignées cancéreuses mammaires MCF-7 d'un facteur d'expression pour *IGFBP-1* ont un effet inhibiteur sur la croissance des cellules induite par IGF-1. L'IGFBP-1 agit donc bien par inhibition de fixation de l'IGF sur son récepteur [18]. L'IGFBP-3 est également une protéine phosphorylée qui possède ses propres récepteurs [17, 19]. Mais elle a une action antiproliférative propre, indépendante des récepteurs de l'IGF-1 (IGFR-1); elle inhibe, en effet, la croissance des fibroblastes dépourvus de ce récepteur. La même action inhibitrice est retrouvée lorsque le gène de l'IGFBP-3 est transfecté dans les fibroblastes, inhibition non levée par l'insuline [20]. Le même effet inhibiteur indépendant du récepteur IGFR-1 est

retrouvé lors du traitement des cellules cancéreuses mammaires Hs578T, dont la croissance est indépendante de l'action des œstrogènes [21]. L'action antitumorale de l'IGFBP-3 est très bien mise en évidence lors de son inactivation dans les milieux contenant les cellules transformées MCF-7 ou Hs578T: on observe alors une augmentation de la prolifération tumorale consécutive à une protéolyse de cette protéine de liaison en un produit de dégradation de 45 kDa par la cathepsine D, toujours augmentée dans les lignées cancéreuses mammaires [22, 23]. Il vient, de plus, d'être démontré que TGF- β exerce son effet inhibiteur sur les cellules cancéreuses mammaires par l'intermédiaire de l'IGFBP-3. En effet, l'expression du gène de l'IGFBP-3 est augmentée par le TGF- β dont l'action inhibitrice est bloquée par un oligonucléotide anti-sens dirigé contre le messenger *IGFBP-3* ou par l'utilisation d'IGF-2 qui empêcherait la liaison d'IGFBP-3 à son récepteur [24]. Enfin, la synthèse de l'IGFBP-3 est induite par l'oncoprotéine p53 dont elle reliairait l'effet inhibiteur de croissance sur les carcinomes mammaires humains [25]. Outre l'IGFBP-3, la cathepsine D pourrait aussi inactiver par protéolyse d'autres inhibiteurs de croissance restant à découvrir. En effet, la stimulation de la prolifération par cette protéase semble liée à son action sur cinq protéines, de 42 à 102 kDa et exige qu'elle soit présente sous sa forme active [26].

Conclusion

En conclusion, la croissance des cellules mammaires peut être contrôlée négativement par plusieurs inhibiteurs qui, parallèlement aux anti-oncogènes *BCRA1* et *BCRA2* récemment découverts (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1172; n° 3, vol. 12, p. 427*), semblent jouer un rôle important dans l'homéostasie de la glande mammaire. Les seins sont soumis, tout au long de la vie, à des remaniements tissulaires considérables qui sont fonction de l'activité reproductrice et de la lactation et qui mettent probablement en jeu toute une série d'acti-

vateurs et d'inhibiteurs de la prolifération cellulaire, normalement soumis à un strict contrôle hormonal. Les désordres de ce contrôle et/ou le déséquilibre entre les agents inducteurs et freinateurs de croissance sont probablement à l'origine de la pathologie tumorale mammaire ■

RÉFÉRENCES

1. Imagawa WG, Bandyo-Pathway G, Nandi S. Regulation of mammary epithelial cell growth in mice and rats. *Endocrinol Rev* 1990; 11: 494-523.
2. Böhmer FD, Lehmann W, Noll F, Samtleben R, Langen P, Grosse R. Specific neutralizing antiserum against a polypeptide growth inhibitor for mammary cells purified from bovine mammary gland. *Biochem Biophys Acta* 1985; 846: 145-54.
3. Böhmer FD, Kraft R, Otto A, Wernstedt C, Helman U, Kurtz A, Müller T, Rohde K, Etzold G, Lehmann W, Langen P, Heldin CH, Grosse R. Identification of a polypeptide growth inhibitor from bovine mammary gland. *J Biol Chem* 1987; 262: 15137-43.
4. Kurtz A, Vogel F, Funa K, Heldin CH, Grosse R. Developmental regulation of mammary-derived growth inhibitor expression in bovine mammary tissue. *J Cell Biol* 1990; 110: 1779-89.
5. Yang Y, Spitzer E, Kenney N, Zschiesche W, Li M, Kromminga A, Müller T, Spener F, Lezius A, Veerkamp JH, Smith GH, Salomon DS, Grosse R. Members of the fatty acid binding protein family are differentiation factors for the mammary gland. *J Cell Biol* 1994; 127: 1097-104.
6. Grosse R, Böhmer FD, Langen P, Kurtz A, Lehmann W, Mieth M, Wallugati G. Purification, Biological assay and immunoassay of mammary derived growth inhibitor. *Meth Enzymol* 1991; 193: 425-40.
7. Russo J, Russo IH. Development of the human mammary gland. In: Neville MC, Daniel P, eds. *The mammary gland*. New York: Plenum, 1987: 67-93.
8. Bansal MP, Medina D. Expression of fatty acid-binding proteins in the developing mouse mammary gland. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191: 61-9.
9. Treutner M, Kosak CA, Gallahan D, Grosse R, Müller T. Cloning and characterization of the mouse gene encoding mammary-derived growth inhibitor/heart fatty acid binding region. *Gene* 1994; 147: 237-42.
10. Knudson AG. Antioncogenes and human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10914-21.
11. Huynh H, Lansson C, Narod S, Pollack M. Tumor suppressor activity of the gene encoding mammary derived growth inhibitor. *Cancer Res* 1995; 55: 2225-31.
12. Wang NP, To H, Lee WH, Lee EY. Tumor suppressor activity of *RB* and *p53* genes in human breast carcinoma cells. *Oncogene* 1993; 8: 279-88.

RÉFÉRENCES

13. Robinson FD, Roberts A, Daniel C. TGF- β suppresses casein synthesis in mouse mammary explants and may play a role in controlling milk levels during pregnancy. *J Cell Biol* 1993; 120: 245-51.
14. Mieth M, Böhmer F, Ball R, Groner B, Grosse R. Transforming growth factor beta inhibits lactogenic hormone induction of β -casein expression in HC-11 mouse mammary epithelial cells. *Growth factors* 1990; 4: 9615-9.
15. Ip MM, Shoemaker SF, Darcy KM. Regulation of rat mammary epithelial cell proliferation and differentiation by tumor necrosis factor- α . *Endocrinology* 1992; 130: 2833-43.
16. Ervin PR Jr, Kaminski MSS, Cody RI, Wicha MS. Production of mammastatin, a tissue-specific growth inhibitor, by normal human mammary cells. *Science* 1989; 244: 1585-7.
17. Harel L. Les propriétés multiples de liaison des IGF (Insulin-like growth factors): inhibiteurs et activateurs de croissance. *Med Sci* 1996; 12: 359-63.
18. Yee D, Jackson JG, Kozelsky W, Figueroa JA. Insulin-like growth factor binding protein 1 expression inhibits insulin-like growth factor 1 action in MCF-7 breast cancer cells. *Cell Growth Differ* 1994; 5: 73-7.
19. Oh Y, Müller HL, Phang H, Rosenfeld RG. Demonstration of receptors for insulin-like growth factor binding protein-3 on Hs578T human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 26045-8.
20. Valentini B, Bhala A, DeAngelis T, Basergua R, Cohen P. The human insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 inhibits the growth of fibroblasts with a targeted disruption of the IGF-I receptor gene. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 361-7.
21. Oh Y, Müller HL, Lamson G, Rosenfeld RG. Insulin-like growth factor (IGF)-independent action of IGF-binding protein-3 in Hs578T human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1993; 20: 14964-71.
22. Binoux M, Hossenlopp P, Lassarre C, Segovia B. Degradation of IGF binding protein-3 by proteases: physiological implications. In: Spencer EM, ed. *Modern concepts of insulin-like growth factors. Proceedings of the 2nd international symposium on insulin-like growth factors/somatomedins*. Amsterdam: Elsevier, 1991: 329-36.
23. Lalou C, Lassarre C, Binoux M. A proteolytic fragment of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 that fails to bond IGFs inhibits the mitogenic effects of IGF-I and insulin. *Endocrinology* 1996; 137: 3206-12.
24. Oh Y, Müller HL, Lilly NG, Rosenfeld RG. Transforming growth factor- β -induced cell growth inhibition in human breast cancer cells is mediated through insulin-like growth factor-binding protein-3 action. *J Biol Chem* 1995; 270: 13589-92.
25. Buckbinder L, Talbott R., Velasco-Miguel S, Takenaka I, Faha B, Selzinger BR, Kley N. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein 3 by p53. *Nature* 1995; 377: 646-9.
26. Liaudet E, Derocq D, Rochefort H, Garcia M. Transfected cathepsin D stimulates high density cancer cell growth by inactivating secreted growth inhibitors. *Cell Growth Differ* 1995; 6: 1045-52.

Jean-François Rouayrenc

Inserm U. 148, 60, rue de Navacelles,
34090 Montpellier Cedex, France.

TIRÉS À PART

J.F. Rouayrenc.

LE DIABÈTE ET SES COMPLICATIONS DANS LA POPULATION FRANÇAISE

C. Delcourt, L. Papoz
1996, 108 p., 110 F

LA BIOPSIE RÉNALE

D. Droz, B. Lantz (Ed)
1996, 624 p., 660 F

MALE GAMETES : PRODUCTION AND QUALITY

S. Hamamah, R. Mleusset (Ed)
Collection Research in...
Ouvrage en anglais avec résumés en français
1996, relié, 350 p., 360 F

LE SYSTÈME IMMUNITAIRE OU L'IMMUNITÉ 100 ANS APRÈS PASTEUR

Dossiers documentaires
Collection suivre la science - INSERM/Nathan
1996, 192 p., 120 F

MÉTHODES D'ENREGISTREMENT ET D'ANALYSE DES STADES VEILLE-SOMMEIL CHEZ LES ENFANTS PRÉMATURÉS ET À TERME / METHODS FOR RECORDING AND ANALYZING SLEEP-WAKEFULNESS STATES IN PRETERM AND FULL-TERM INFANT

L. Curzi-Dascalova, M. Mimiran
Collection Techniques en...
Ouvrage bilingue : français-anglais, 1996, 136 p., 140 F

NOUVELLES TECHNOLOGIES DANS L'ÉDUCATION DES DÉFICIENTS VISUELS / NEW TECHNOLOGIES IN THE EDUCATION OF THE VISUALLY HANDICAPPED

D. Burger (Ed)
Coédition INSERM/John Libbey
Ouvrage en anglais avec résumés en français
Colloque, vol. 237, 1996, 350 p., 290 F.

HANDICAP ET VIEILLISSEMENT Politiques publiques et pratiques sociales

S. Aymé, J.C. Henrard, A. Colvez, J.F. Ravaud,
O. Sabouraud, A. Triomphe (Ed)
Collection Questions en santé publique
1996, 356 p., 280 F

En vente dans
les librairies
spécialisées


LES ÉDITIONS
INSERM

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET
DE LA RECHERCHE MÉDICALE

101, rue de Tolbiac - 75654 Paris cedex 13
Tél. : 44 23 60 82/60 81 - Fax : 44 23 60 99