



dose thérapeutique de cet antibiotique devrait ainsi limiter l'apparition des effets hépatotoxiques indésirables lors du traitement de la tuberculose.

EthA est également impliqué dans l'activation d'autres thioamides tels que le prothionamide, le thiacétazone et l'isoxy. Ce dernier composé présente l'intérêt de cibler une lipide-désaturase mycobactérienne, cible non encore exploitée par l'arsenal thérapeutique en usage. Enfin, *Mycobacterium leprae*,

malheureusement résistant à l'isoniazide, est sensible au prothionamide pour lequel une baisse de la dose thérapeutique serait également bienvenue pour éviter les effets secondaires du traitement contre la lèpre. ♦

Doping in the peloton of antituberculosis drugs

RÉFÉRENCES

1. Baulard AR, Betts JC, Engohang-Ndong J, et al. Activation of the pro-drug ethionamide is regulated in Mycobacteria. *J Biol Chem* 2000; 275: 28326-31.

2. DeBarber AE, Mdluli K, Bosman M, et al. Ethionamide activation and sensitivity in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9677-82.
3. Engohang-Ndong J, Baillat D, Aumercier M, et al. EthR, a repressor of the TetR/CamR family implicated in ethionamide resistance in Mycobacteria, octamerizes cooperatively on its operator. *Mol Microbiol* 2004; 51: 175-88.
4. Frenois F, Engohang-Ndong J, Loch C, et al. Structure of EthR in a ligand bound conformation reveals therapeutic perspectives against tuberculosis. *Mol Cell* 2004; 16: 301-7.
5. Fraaije MW, Kamerbeek NM, Heidekamp AJ, et al. The prodrug activator EtaA from *Mycobacterium tuberculosis* is a Baeyer-Villiger monooxygenase. *J Biol Chem* 2004; 279: 3354-60.

NOUVELLE

Acide lysophosphatidique : un nouveau lien entre plaquettes sanguines et métastases osseuses

Olivier Peyruchaud, Ahmed Boucharaba, Jean-Sébastien Saulnier-Blache, Philippe Clézardin

► La formation de métastases osseuses est une complication fréquente au cours du développement de nombreux cancers (sein, prostate, foie, reins, thyroïde). Les métastases osseuses sont souvent associées à une dégradation du tissu osseux qui est à l'origine de douleurs intenses, d'une élévation de la calcémie et de fractures pathologiques. Ces métastases sont en général très invalidantes et liées à une très forte morbidité [1].

Dans le cas du cancer du sein, les données cliniques et expérimentales actuelles indiquent que les cellules tumorales présentes dans la cavité médullaire produisent un certain nombre de facteurs - protéine apparentée à la parathormone (PTHrP), cytokines - qui stimulent l'activité des ostéoclastes dont la principale fonction est de dégrader l'os. Le tissu osseux étant un réservoir de facteurs de croissance tels que le *transforming growth factor* β (TGF β) et les *insulin like growth factors* (IGF) [2], ces facteurs de croissance sont libérés

de la matrice osseuse au cours de la résorption; ils vont alors stimuler le développement des cellules tumorales ainsi que la production de PTHrP par ces cellules, ce qui va amplifier l'activité de résorption des ostéoclastes. La métastase osseuse est alors le siège d'un cercle vicieux dans lequel la résorption osseuse et le développement tumoral s'entretiennent mutuellement [3]. Les traitements actuels des patients ayant des métastases osseuses, utilisant des inhibiteurs puissants de la résorption osseuse (bisphosphonates), permettent de ralentir la progression de la destruction osseuse mais restent malheureusement inefficaces quant au développement des cellules tumorales présentes sur le site osseux et à l'évolution ultime de ces métastases [4]. L'ensemble de ces données indique que des facteurs endogènes autres que ceux libérés de la matrice osseuse stimulent la croissance des cellules tumorales sur le site métastatique.

O. Peyruchaud,
A. Boucharaba, P. Clézardin:
Inserm U.664; Université
Claude Bernard Lyon 1;
Faculté de Médecine
Laennec, 69372 Lyon Cedex
08, France.
J.S. Saulnier-Blache:
Inserm U.586; Institut Louis
Bugnard; Université Paul
Sabatier,
CHU Rangueil, 31403
Toulouse Cedex 04, France.
peyruchaud@lyon.inserm.fr

L'acide lysophosphatidique (LPA) est un lipide biologiquement actif, présentant une activité de type facteur de croissance *in vitro* (stimulation de la prolifération, migration et invasion cellulaire) [5]. L'implication du LPA dans le processus cancéreux émerge à l'heure actuelle de certaines études. Cependant, son rôle est très mal défini [5]. Dans notre étude, nous présentons des évidences expérimentales démontrant que le LPA, produit par les plaquettes sanguines, stimule la progression des métastases osseuses induites par les cellules de cancer du sein [6]. Nous avons montré que l'activité mitogénique du LPA, sur une série de lignées cellulaires humaines de cancer du sein, était dépendante de la présence des récepteurs du LPA (LPA₁, LPA₂ et LPA₃). À

partir de la lignée cellulaire humaine MDA-B02 [7], nous avons établi par génie génétique des sous-clones stables qui surexpriment le récepteur LPA₁ de façon conditionnelle, grâce au système d'expression *Tet-Off* réglé par la tétracycline ou ses analogues (la doxycycline) qui agissent en tant que répresseurs du système d'expression. Nous avons observé que la surexpression du récepteur LPA₁

sensibilise de façon spécifique les cellules MDA-B02 à l'action mitogénique du LPA *in vitro*. *In vivo*, la surexpression de LPA₁ dans ces cellules amplifie la croissance de xénogreffes sous-cutanées et augmente de façon dramatique la formation des métastases osseuses chez l'animal, en augmentant la croissance de la masse tumorale, la prolifération cellulaire et la destruction osseuse

(Figure 1). Ces résultats indiquent que du LPA est produit *in vivo* localement dans l'environnement tumoral. Les lignées cellulaires utilisées dans cette étude ne produisent pas *in vitro* naturellement de LPA, ni même l'autotaxine, une enzyme qui permet la synthèse de LPA en présence de lysophosphatidyl choline [8]. Il est donc peu vraisemblable que les cellules MDA-B02 produisent directement du LPA *in vivo*. L'origine de ce LPA restait à donc à déterminer. Nous avons montré qu'un candidat serait les plaquettes sanguines. En effet, les plaquettes produisent des quantités importantes de LPA dans l'organisme, lors de l'agrégation

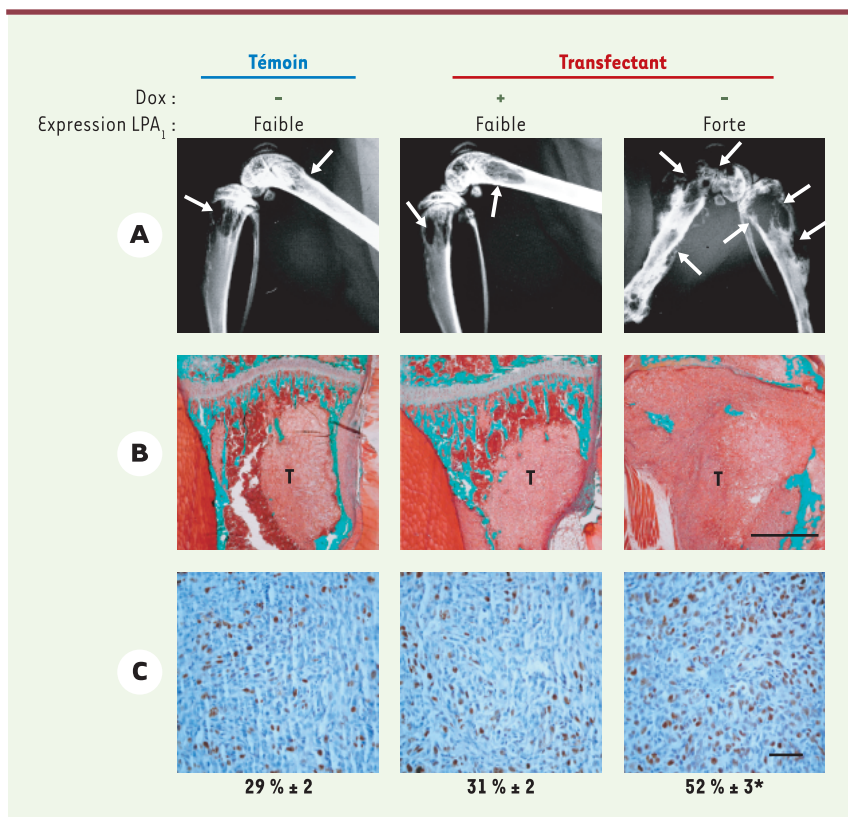


Figure 1. Effets de la surexpression du récepteur (LPA1) de l'acide lysophosphatidique (LPA) dans les cellules MDA-B02 sur la formation des métastases osseuses. Les animaux, alimentés avec de l'eau de boisson complétée (+) ou non (-) avec de la doxycycline (Dox), ont été injectés par voie intraveineuse avec les cellules témoins (MDA-B02) ou le transfectant (clone n° 3). **A.** Images radiographiques représentatives des membres inférieurs des animaux, 30 jours après l'injection des cellules tumorales. En condition de surexpression de LPA₁ (absence de doxycycline), une augmentation très importante de l'étendue des lésions ostéolytiques (flèches blanches) est observée chez les animaux injectés avec le transfectant. **B.** Images représentatives des coupes histologiques des métaphyses tibiales des animaux métastatiques colorées avec le trichrome de Goldner. L'os apparaît en bleu, les cellules de la moelle osseuse et les cellules tumorales sont colorées en rouge. L'os trabéculaire a été complètement détruit et remplacé par les cellules tumorales (T) dans la métaphyse tibiale chez les animaux surexprimant LPA₁ (échelle: 1 mm). **C.** Marquage immunohistochimique des tumeurs osseuses à l'aide d'un anticorps dirigé contre l'antigène nucléaire Ki-67. L'index de prolifération cellulaire (indiqué dans chaque panneau) correspond au pourcentage de noyaux exprimant l'antigène Ki-67. Les valeurs correspondent à la moyenne ± DS (déviations standard) de 6 tumeurs indépendantes. *: $p < 0,0001$ (échelle: 100 μ m).

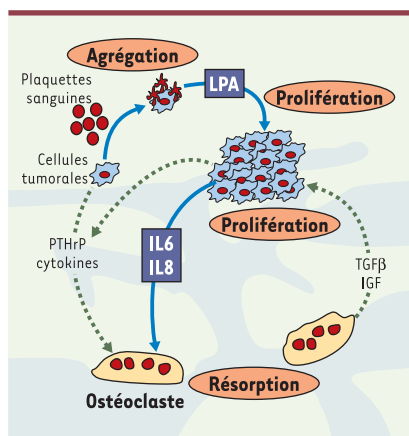


Figure 2. Rôle de l'acide lysophosphatidique (LPA) dans la progression des métastases osseuses. Les cellules de cancer du sein produisent différents facteurs (PTHrP, cytokines) qui stimulent la résorption osseuse dépendante des ostéoclastes. La résorption osseuse permet la libération de facteurs de croissance piégés dans la matrice osseuse (IGF, TGFβ). Certains de ces facteurs vont stimuler la croissance tumorale et la production de PTHrP par les cellules tumorales. Cela induit la formation d'un cercle vicieux illustré par les flèches vertes pointillées [3]. Les cellules tumorales présentes dans la cavité médullaire induisent également l'agrégation des plaquettes sanguines et la formation de LPA à partir des plaquettes activées. Le LPA d'origine plaquettaire va alors stimuler la croissance tumorale et la production par les cellules tumorales des interleukines IL-6 et IL-8 qui vont elles-mêmes amplifier la résorption osseuse dépendante des ostéoclastes (flèches bleues).



tion plaquettaire en réponse à une stimulation par la thrombine [9]. L'agrégation des plaquettes sanguines induite par les cellules tumorales joue un rôle important dans la dissémination métastatique de nombreux cancers [10]. Nous avons observé que nos lignées cellulaires de cancer du sein ainsi que des cellules tumorales ovariennes de hamster (CHO- β 3wt), qui induisent chez l'animal la formation de métastases osseuses [11], induisent l'agrégation des plaquettes sanguines et la production de LPA par les plaquettes activées. Nous avons montré que le LPA d'origine plaquettaire est actif sur les cellules tumorales en stimulant leur prolifération et la production des interleukines IL-6 et IL-8, qui sont deux stimulateurs puissants de la résorption osseuse. Par ailleurs, le blocage de la libération du LPA plaquettaire chez l'animal, en utilisant un inhibiteur des fonctions plaquettaires, l'épifibatide (Integrilin®), inhibe la progression des métastases osseuses induites par les cellules MDA-MB231 parentales ou surexprimant LPA₁, et réduit également la progression des lésions ostéolytiques chez des animaux

injectés avec les cellules CHO- β 3wt. Nos résultats permettent de proposer, qu'en plus du cercle vicieux qui s'établit entre les cellules de cancer du sein et les ostéoclastes, la métastase osseuse est le siège d'un second cercle vicieux au cours duquel les cellules tumorales stimulent la production de LPA par les plaquettes sanguines activées, LPA qui, à son tour, stimule directement la croissance tumorale et indirectement la résorption osseuse sous la dépendance des interleukines IL-6 et IL-8 (Figure 2). Ces résultats démontrent pour la première fois que le LPA joue un rôle important dans un processus cancéreux, au niveau de la progression des métastases osseuses et suggèrent que le LPA puisse être considéré comme une cible thérapeutique d'avenir dans le traitement des patients atteints de métastases osseuses. ♦

Lysophosphatidic acid: a new link between blood platelets and bone metastasis

REMERCIEMENTS

Cette étude a été possible grâce au soutien du Comité de la Loire de la Ligue Contre le Cancer.

RÉFÉRENCES

1. Body JJ. Metastatic bone disease: clinical and therapeutic aspects. *Bone* 1992; 13: S57-62.
2. Guise TA, Mundy GR. Cancer and bone. *Endocrinol Rev* 1998; 19: 18-54.
3. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 584-93.
4. Pickering LM, Mansi JL. The role of bisphosphonates in breast cancer management. *Curr Med Res Opin* 2002; 18: 284-95.
5. Mills GB, Moolenaar WH. The emerging role of lysophosphatidic acid in cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 582-91.
6. Boucharaba A, Serre CM, Gres S, et al. Platelet-derived lysophosphatidic acid supports the progression of osteolytic bone metastases in breast cancer. *J Clin Invest* 2004; 114: 1714-25.
7. Peyruchaud O, Serre CM, NicAmhlaioibh R, et al. Angiostatin inhibits bone metastasis formation in nude mice through a direct anti-osteoclastic activity. *J Biol Chem* 2003; 278: 45826-32.
8. Umezū-Goto M, Kishi Y, Taira A, et al. Autotaxin has lysophospholipase D activity leading to tumor cell growth and motility by lysophosphatidic acid production. *J Cell Biol* 2002; 158: 227-33.
9. Eichholtz T, Jalink K, Fahnenfort I, Moolenaar WH. The bioactive phospholipid lysophosphatidic acid is released from activated platelets. *Biochem J* 1993; 291: 677-80.
10. Gasic GJ, Gasic TB, Galanti N, et al. Platelet-tumor-cell interactions in mice. The role of platelets in the spread of malignant disease. *Int J Cancer* 1973; 11: 704-18.
11. Pecheur I, Peyruchaud O, Serre CM, et al. Integrin alpha(v)beta3 expression confers on tumor cells a greater propensity to metastasize to bone. *FASEB J* 2002; 16: 1266-8.

NOUVELLE

Activer un signal β -caténine dans le foie est oncogénique

Sabine Colnot, Thomas Decaens, Christine Perret

► Associée aux facteurs de risque majeurs que sont les hépatites virales B et C (en augmentation constante dans le monde occidental), et les hépatites alcooliques, une recrudescence de cancers primitifs du foie est actuellement observée. Ces carcinomes hépatocellulaires (CHC) se développent tardivement sur des foies cirrhotiques et sont de mauvais pronostic. Cette carcinogenèse est encore mal comprise à l'échelle moléculaire, et jus-

qu'il y a quelques années, deux grandes voies de signalisation, p53 et Rb, étaient décrites comme étant fréquemment inactivées. La modélisation chez la souris était prometteuse, permettant d'évaluer, à long terme, l'effet d'une mutation génétique unique. Cependant, la létalité précoce des modèles murins d'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs p53 et Rb ne permit pas

Inserm U.567, CNRS UMR 8104, Institut Cochin, Université Paris V, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France. perret@cochin.inserm.fr

d'évaluer le rôle oncogénique de ces inactivations dans le foie [1]. En revanche, des tumeurs hépatiques purent être détectées chez d'autres souris exprimant dans le foie l'oncogène c-myc [2, 3], fréquemment amplifié dans les CHC.

Les mutations β -caténine définissent une classe particulière de CHC chez l'homme

La voie de signalisation Wnt/ β -caténine joue un rôle clé pour déterminer des