

## Facteurs de croissance

### Le temps des surprises

Les facteurs de croissance ont ceci de particulier que la multiplicité de leurs fonctions et de leurs propriétés empêche de se fier à leur désignation et de se référer aux schémas bien établis de leur mode d'action.

Les **bone morphogenic proteins** peuvent être des **protéases**, et sont, pour beaucoup d'entre elles, des **morphogènes** dont l'action ne se limite pas au développement de l'os. En pratique, elles pourraient néanmoins avoir un immense intérêt dans le traitement des pertes osseuses. Les **fibroblast growth factors**, dont on sait depuis longtemps qu'ils n'affectent pas la croissance des fibroblastes, peuvent agir à l'intérieur aussi bien qu'à l'extérieur des cellules. Les voies de transmission des signaux issus des **FGF** intra et extracellulaires sont d'ailleurs différentes. Enfin, les transporteurs de facteurs de croissance peuvent eux-mêmes révéler bien des surprises : une protéine de liaison des IGF, **IGF-BP3**, peut se comporter comme un transporteur classique ou bien, par certains de ses fragments, comme un inhibiteur ou comme un activateur de la prolifération, indépendamment de la liaison des ligands IGF.

## Les propriétés multiples des protéines de liaison des IGF (insulin-like growth factors) : inhibiteurs et activateurs de croissance

Les IGF-I et II sont des facteurs de croissance qui stimulent la prolifération cellulaire par l'intermédiaire d'un récepteur (R IGF-I). Celui-ci acquiert une activité tyrosine kinase quand il lie son ligand. On commen-

ce à connaître quelques maillons de la cascade d'événements induite par l'activation de cette protéine kinase qui conduit à la multiplication des cellules. Les IGF-I et II sont synthétisés par différents tissus du fœtus et de l'adulte. Ils agissent, soit d'une manière autocrine ou paracrine, soit à distance, transportés par la circulation sanguine. Dans le plasma et d'autres fluides, ils se trouvent liés à des protéines (*insulin-like growth factors binding proteins*, IGFBP), qui peuvent elles-mêmes se lier à d'autres protéines. On connaît six familles de protéines, liant les IGF, qui partagent une certaine analogie de structure et dont les ADNc ont été clonés. Les IGFBP-1, 3, et 4 lient l'IGFI et l'IGF-II avec la même affinité. Les IGFBP-2, 5 et 6 ont plus d'affinité pour l'IGFII que pour l'IGF1 [1]. L'expression des gènes *IGFBP* est précisément réglée. La transcription d'*IGFBP-1* est stimulée par le glucose et le glucagon. Elle est augmentée chez le rat diabétique et diminue dès une heure après l'injection d'insuline [2]. Le niveau d'IGFBP-2 dans le plasma est augmenté après un jeûne [3]. L'IGFBP-3 et les IGF circulent dans le sang sous la forme d'un complexe de 150 kDa qui est sous la dépendance de l'hormone de croissance [4]. Pendant la grossesse, on constate une diminution dans le sang circulant de la concentration en IGFBP-3, diminution liée à une activité protéasique [5].

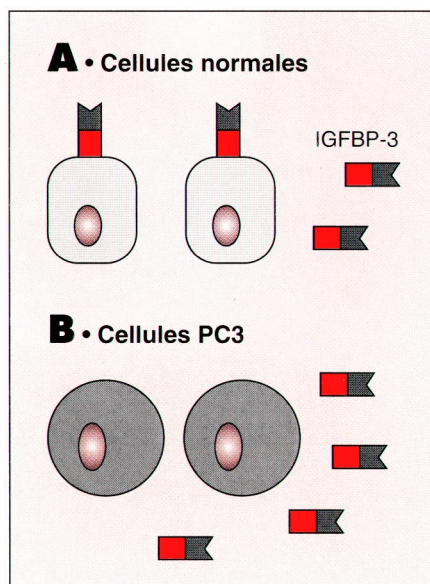


Figure 1. Réponse à l'IGFBP-3 des cellules normales et des cellules malignes. A. L'IGFBP-3 inhibe la prolifération de cellules épithéliales prostatiques normales par un mécanisme indépendant d'IGF: l'insuline, qui bloque les récepteurs d'IGF, ne modifie pas le phénomène. B. IGFBP-3 n'inhibe pas la prolifération des cellules PC3 (adénocarcinome prostatique).

## Actions biologiques des IGFBP

Les IGFBP ont différentes fonctions. La première est la mise en réserve des IGF et leur transport dans le sérum [1]. Au niveau cellulaire, elles contrôlent la biodisponibilité des IGF sécrétés localement. Elles peuvent inhiber la croissance cellulaire en séquestrant les IGF et en les empêchant de se lier à leur récepteur. Mais elles peuvent aussi avoir un effet inhibiteur, indépendant de leur propriété de lier les IGF. A l'inverse, elles peuvent potentialiser la réponse mitogénique des IGF dans certaines conditions.

De nombreux résultats ont mis en évidence une inhibition par l'IGFBP-1 de la synthèse de l'ADN induite par les IGF-I et II [6]. Cependant, une analyse plus approfondie montre que l'IGFBP-1 peut également stimuler l'action des IGF [7]. Il a été montré que l'IGFBP-1 était soit sous une forme phosphorylée sur quatre sérines, soit sous une forme déphosphorylée. L'affinité de l'IGFBP-1 pour l'IGF augmente avec la phosphorylation [8]. Clemmons suggère que l'effet stimulant serait lié à la forme déphosphorylée [8]. L'IGFBP-1, qui a une séquence RGD (Arg-Gly-Asp, *m/s n° 6, vol. 2, p. 337*), se lie à la membrane avec l'IGF et le concentre près de son récepteur qui le lie immédiatement car son affinité pour l'IGF est plus grande que celle de l'IGFBP-1 déphosphorylée [9].

L'IGFBP-3 peut aussi être sous forme phosphorylée, mais on n'a pas montré que sa phosphorylation modifie son activité [10]. L'IGFBP-3 est une protéine particulièrement intéressante car elle est multifonctionnelle. D'une part, elle lie avec une bonne affinité les IGF et inhibe leur effet stimulant en les maintenant captifs et en les empêchant d'atteindre leur récepteur [11, 12]. D'autre part, elle peut aussi potentialiser les IGF.

De Mellow et Baxter [11] ont montré que l'ajout simultané d'IGFBP-3 et d'IGF à des fibroblastes inhibait la synthèse de l'ADN induite normalement par les IGF. En revanche, IGFBP-3 stimulait l'effet des IGF quand les cellules étaient préincubées en sa présence, avant l'ajout d'IGF. L'IGFBP-3 est sécrétée par les

cellules d'adénocarcinome de la prostate (PC-3). Cette IGFBP-3 stimule la prolifération des cellules d'adénocarcinome de la prostate alors que la même préparation d'IGFBP-3, dans les mêmes conditions, inhibe la prolifération des cellules de prostate humaine normales (*figure 1*) [13]. On ne connaît pas actuellement le mécanisme de la stimulation de la prolifération cellulaire par l'IGFBP-3. Conover [14], qui a retrouvé dans un modèle de fibroblastes bovins le phénomène décrit par Baxter, a montré que la préincubation des fibroblastes avec l'IGFBP-3 induit, d'une part, une dégradation ménagée de l'IGFBP-3 et, d'autre part, sa liaison à la membrane. Le fragment d'IGFBP-3 a une af-

finité pour les IGF plus faible que celle de la molécule entière, mais cette affinité serait suffisante pour concentrer l'IGF à la membrane, favorisant ainsi sa liaison à son récepteur. La stimulation de la prolifération des cellules d'adénocarcinome de la prostate par l'IGFBP-3 dépend d'une activité protéasique et de la présence d'un récepteur d'IGF [15]. Elle pourrait aussi être due à une forme partiellement dégradée de l'IGFBP-3 qui potentialiserait l'effet de l'IGF (*figure 2*) [15]. Notons que le fragment d'IGFBP-3 peut avoir un effet mitogène indépendant de l'IGF [16] et que la potentialisation de l'action de l'IGF a été retrouvée pour l'IGFBP-5 qui se lie à la membrane des cellules [17].

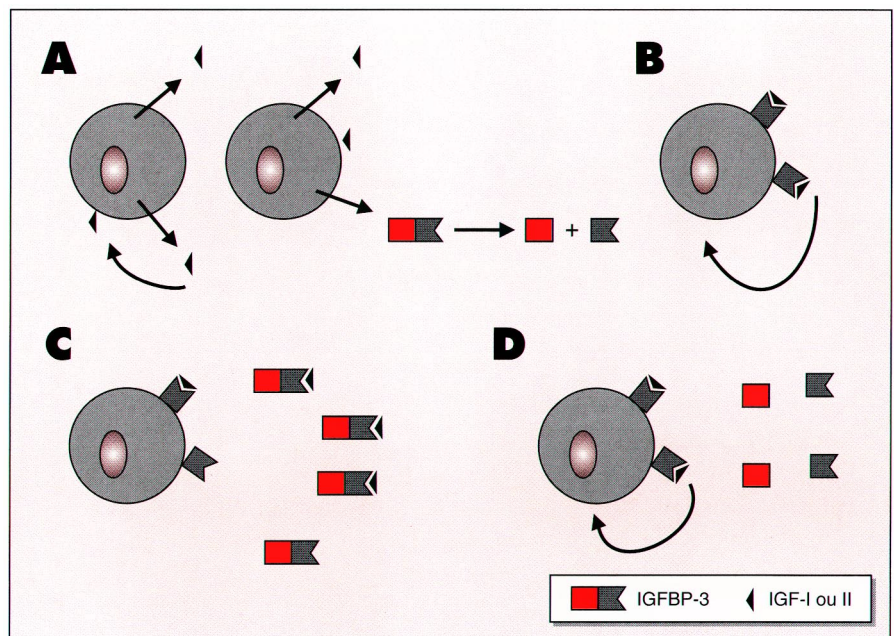


Figure 2. **IGFBP-3, potentialisateur de la stimulation par IGF-II.** Les cellules PC3 d'adénocarcinome prostatique sécrètent à la fois IGF-II et IGFBP-3. **A.** La prolifération cellulaire est stimulée par IGF-II. IGFBP-3 est protéolysé dans le milieu extracellulaire. **B.** L'ajout d'IGFBP3 (25 ng/ml) stimule la prolifération. Celle-ci disparaît en présence de l'anticorps  $\alpha$ IR3 dirigé contre le récepteur IGF ou en présence d'un inhibiteur de protéase. L'IGF-II sécrétée se lierait avec une faible affinité à l'un des fragments protéolysés d'IGFBP-3; le complexe, concentré près de la membrane, augmenterait la probabilité pour IGF-II de se lier à son récepteur et de stimuler ainsi la prolifération. **C.** En présence de fortes concentrations d'IGFBP-3 (150 ng/ml) on n'observe qu'une faible stimulation ou une faible inhibition de la prolifération: une partie d'IGFBP-3 protéolysée stimulerait la prolifération, alors que la partie restée entière l'inhiberait. La résultante est une variation non significative. **D.** Si IGFBP-3 est ajoutée à forte concentration en même temps qu'une protéase la dégrade, la prolifération est stimulée. Le fragment protéolytique est donc vraisemblablement stimulateur de la prolifération.

L'IGFBP-3 est aussi un inhibiteur bifonctionnel (figure 3). Il a des propriétés inhibitrices indépendantes de sa propriété de lier les IGF. Blat *et al.* avaient purifié, à partir de milieu conditionné par les cellules de souris, un inhibiteur de croissance appelé IDF45 (*inhibitory diffusible factor*) qui avait la propriété d'inhiber totalement la prolifération de fibroblastes de souris ou de poulet stimulée par le sérum. Il fut montré, par la suite, que l'IDF45 était une IGFBP-3 [12]. Différents résultats suggéraient que cette IGFBP-3 avait une propriété inhibitrice indépendante de sa propriété de lier les IGF [12]. Notons, en particulier, qu'elle était capable d'inhiber la prolifération des cellules de prostate normale en présence d'insuline [13], c'est-à-dire dans les conditions où les récepteurs d'IGF sont bloqués. Elle inhibait aussi la prolifération des fibroblastes induite par le FGF (*fibroblast growth factor*) [18], ou le TGF $\beta$  (*tumor growth factor  $\beta$* ) [19] qui est un facteur de croissance pour les fibroblastes. En revanche, elle n'inhibait pas la stimulation induite par le PDGF (*platelet-derived growth factor*) ou l'EGF (*epidermal growth factor*) [18]. Sa propriété de lier l'IGF ne permettait pas d'expliquer l'inhibition totale, par l'IGFBP-3, de la stimulation de la prolifération induite par le sérum [12]. Par la suite, il était montré que l'IGFBP-3 inhibait la stimulation induite par une fraction protéique sérique de haut poids moléculaire et dépourvue d'IGF [20]. Cependant, on pouvait supposer que la stimulation de la prolifération induite par la fraction sérique était la conséquence de l'augmentation de la sécrétion des IGF par les cellules. Cette hypothèse fut abandonnée après avoir comparé les effets des IGFBP-1 et IGFBP-3. Alors que la stimulation de la prolifération par la fraction sérique était inhibée à 80 % par l'IGFBP-3, elle ne l'était pas de manière significative par l'IGFBP-1. Or l'IGFBP-1, comme l'IGFBP-3, inhibe à 100 % la stimulation induite par IGF-I et II [21]. Ces dernières expériences mettaient bien en évidence un effet inhibiteur de l'IGFBP-3 indépendant de sa propriété de lier les IGF.

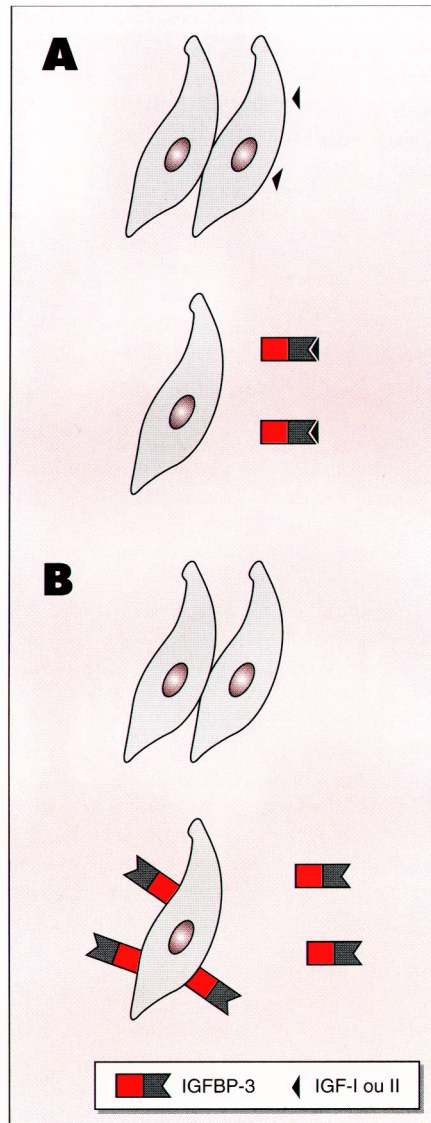


Figure 3. **IGFBP-3 est un inhibiteur bifonctionnel de la prolifération cellulaire.** A. IGF (20 ng/ml) stimule la prolifération. L'ajout d'IGFBP-3 (240 ng/ml) inhibe la prolifération, par séquestration d'IGF. B. En l'absence d'IGF, FGF (fibroblast growth factor) (4 ng/ml) ou l'ajout de sérum dépourvu d'IGF stimule la prolifération; si on ajoute au milieu IGFBP-3 (150 ng/ml), la prolifération est inhibée par un mécanisme indépendant d'IGF. Un fragment protéolytique d'IGFBP-3 porte une fonction inhibitrice indépendante d'IGF.

De même, l'IGFBP-3 était capable d'inhiber la prolifération des cellules Hs578T provenant de tumeurs mammaires tandis que l'IGFBP-1 était incapable de l'inhiber [22]. Cohen *et al.* [23] ont mis en évidence une inhibition de la croissance des cellules en culture quand elles étaient transfectées par le gène *IGFBP-3*, une inhibition non levée par l'insuline. Enfin, la transfection d'*IGFBP-3* dans des cellules de souris dépourvues de récepteurs d'IGF-I induit aussi une inhibition de la croissance des cellules [24]. Notons que l'IGFBP-3 a des sites de fixation membranaires [25, 26], ce qui peut expliquer son caractère bifonctionnel. Il faut aussi signaler un travail de C. Lalou et M. Binoux montrant qu'un fragment d'IGFBP-3 de 16 kDa (obtenu après protéolyse ménagée de l'IGFBP-3 par la plasmine) n'a pas la propriété de lier les IGF mais est capable d'inhiber la stimulation de la croissance cellulaire induite par l'insuline dans les fibroblastes d'embryon de poulet [27]. L'ensemble de ces résultats met en évidence un effet inhibiteur de l'IGFBP-3 indépendant de sa propriété de lier les IGF. Enfin, des résultats récents donnent à l'IGFBP-3 un rôle primordial car la synthèse de cette molécule serait responsable de l'effet inhibiteur du TGF $\beta$  [28], et de l'acide rétinolique (présentation au dernier symposium de Tübingen, 1995). Enfin, la synthèse d'IGFBP-3 est induite par l'antioncoprotéine p53 et serait responsable de l'effet inhibiteur de croissance de la protéine p53 [29].

#### Implication de l'IGFBP-3 dans l'inhibition dite « de contact »

Dès que l'on a pu transformer *in vitro* les cellules normales en cellules cancéreuses, des différences importantes dans la régulation de la croissance des deux types de cellules ont été observées. Alors que dans les cultures de cellules normales le métabolisme, et en particulier la synthèse de l'ADN, diminue lorsque augmente la densité cellulaire, les cellules cancéreuses ne sont pas inhibées en fonction de la densité cellulaire et continuent

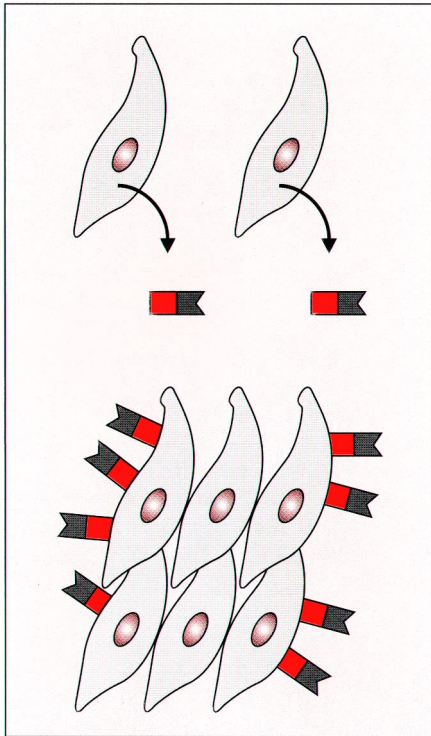


Figure 4. **Rôle d'IGFBP-3 dans l'inhibition dite «de contact».** Les fibroblastes normaux en culture éparsée sécrètent IGFBP-3 en faible concentration ce qui entraîne une faible inhibition. En revanche, lorsque la densité de la culture s'accroît, IGFBP-3 se trouve en forte concentration. La proximité des cellules augmente la fixation d'IGFBP3 à la membrane et inhibe la poursuite de la prolifération.

de se multiplier jusqu'à épuisement du milieu [30]. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer ces différences. Des résultats appuient l'hypothèse selon laquelle un ou des inhibiteurs de croissance sécrété(s) par les cellules serai(en)t responsable(s) de cette inhibition dépendant de la densité (*density-dependent inhibition* DDI) dans les cellules normales [31]. Parmi ces inhibiteurs, on peut citer l'IGFBP-3 (figure 4). En effet, l'IGFBP-3 est sécrétée par différents types de cellules. Sa sécrétion augmente avec la densité cellulaire et la vitesse de multiplication des cellules [32]. Elle s'accumule dans le milieu et atteint de fortes concentrations dans les cultures au plateau [33]. Enfin, les mi-

lieux conditionnés par les cultures denses sont inhibiteurs de la prolifération de cultures éparsées, inhibition levée par traitement du milieu par l'anticorps anti-IGFBP-3 [33].

Il est intéressant de noter que les cellules cancéreuses qui ne sont pas inhibées par la densité cellulaire ne sont pas non plus inhibées par l'IGFBP-3 [34]. Au contraire, la croissance des cellules d'adénocarcinome de la prostate est stimulée par l'IGFBP-3, comme nous l'avons dit plus haut. Cette stimulation serait liée à une activité protéasique des cellules malignes, activité qui dégrade partiellement l'IGFBP-3 et lui donnerait une activité potentialisatrice de l'IGF-II sécrété par les cellules [35]. Les cellules normales, dont la croissance est inhibée par l'IGFBP-3, ont peu d'activité protéasique (résultats non publiés).

En conclusion, les protéines de liaison des IGF, qui se trouvent en quantité importante dans le sang et dans de nombreux tissus, jouent un rôle primordial dans la régulation du métabolisme cellulaire. Elles mettent en réserve et transportent les IGF au niveau des différents tissus et en sont de puissants inhibiteurs. Elles sont impliquées dans l'inhibition de la croissance cellulaire dépendante de la densité, dite inhibition de «contact». D'une part, en les bloquant, elles empêchent les IGF libres de se lier à leur récepteur membranaire, d'autre part, certaines d'entre elles ont une propriété inhibitrice de la prolifération cellulaire indépendante de leur propriété de lier les IGF. Enfin, elles peuvent subir des modifications post-traductionnelles (lyse ménagée ou phosphorylation) qui modulent leur affinité pour les IGF et en font, au contraire, des facteurs stimulant le métabolisme cellulaire ■

**Louise Harel**

*Institut de recherches scientifiques sur le cancer, 7, rue Guy-Môquet, BP n° 8, 94801 Villejuif Cedex, France.*

**TIRÉS A PART**

L. Harel.

## RÉFÉRENCES

1. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological actions. *Endocrine Rev* 1995; 16: 3-34.
2. Ooi G, Orlowski C, Brown A, Becker R, Unterman T, Rechler M. Different tissue distribution and hormonal regulation of mRNA encoding rat insulin-like growth factor binding proteins rIGFBP-1 and rIGFBP-3. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 321-8.
3. Clemmons D, Snyder D, Busby W. Variables controlling the secretion of insulin-like growth factor binding protein 2 in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 727-33.
4. White R, Nissley S, Moses A, Rechler M, Johnson Baugh R. The growth hormone dependence of a somatomedin-binding protein in human serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53: 49-57.
5. 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. Proceeding of the 2<sup>nd</sup> international symposium on insulin-like growth factors/somatomedins*. Amsterdam: Elsevier, 1991 : 329-36.
6. Rechler M, Nissley S. Insulin-like growth factors. In: Sporn MB, Roberts AB, eds. *Peptide growth factors and their receptors I*. Berlin, Springer Verlag, 1990: 263.
7. Elgin R, Busby W, Clemmons D. An insulin-like growth factor binding protein enhances the biologic response to IGF-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 3254-8.
8. Jones JI, D'Ercole AJ, Camacho-Hubner C, Clemmons DR. Phosphorylation of insulin-like growth factor (IGF)-binding protein 1 in cell culture and *in vivo*: effects of affinity for IGF-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7481-5.
9. Jones JI, Busby WH, Wright G, Smith CE, Kimack NM, Clemmons DR. Identification of the sites of phosphorylation in insulin-like growth factor binding protein-1. *J Biol Chem* 1993; 268: 1125-31.
10. Mukku V, Chu H. Phosphorylation of insulin-like growth factor binding proteins by mammalian cells. *Program of the 72nd Annual Meeting of The Endocrine Society, Atlanta GA*, 1990.
11. DeMellow J, Baxter R. Growth hormone dependent insulin-like growth factor binding protein both inhibits and potentiates IGF-I stimulated DNA synthesis in skin fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 156: 199-204.
12. Blat C, Delbe J, Villaudy J, Chatelain G, Golde A, Harel L. Inhibitory diffusible factor 45 bifunctional activity: as a cell growth inhibitor and as an IGF binding protein. *J Biol Chem* 1989; 264: 12449-54.
13. Kaicer E, Blat C, Imbenotte J, et al. IGF binding protein-3 secreted by the prostate

## RÉFÉRENCES

- adenocarcinoma cells (PC-3): differential effect on PC-3 and normal prostate cell growth. *Growth Regul* 1993; 3: 180-9.
14. Conover CA, Ronk M, Lombana F, Powell DR. Structural and biological characterization of bovine insulin-like growth factor binding protein-3. *Endocrinology* 1990; 127: 2795-803.
15. Angelloz-Nicoud P, Harel L, Binoux M. Recombinant human IGF binding protein-3 stimulates prostate carcinoma cell (PC-3) proliferation *via* an IGF-dependent mechanism. Role of serine proteases. *Growth Regul* 1996 (sous presse).
16. Booth BA, Bar RS, Boes M, Dake BL, Marvin B, Cascieri M. Intrinsic bioactivity of insulin-like growth factor-binding proteins from vascular endothelial cell. *Endocrinology* 1990; 127: 2630-8.
17. Jones J, Gockerman A, Busby W, Camacho-Hubner C, Clemmons D. Extracellular matrix contains insulin-like growth factor binding protein-5: potentiation of the effects of IGF-I. *J Cell Biol* 1993; 121: 679-87.
18. Villaudy J, Delbe J, Blat C, Desauty G, Golde A, Harel L. An IGF binding protein is an inhibitor of FGF stimulation. *J Cell Physiol* 1991; 149: 492-6.
19. Imbenotte J, Liu L, Desauty G, Harel L. Stimulation by TGF $\beta$  of chick embryo fibroblasts-inhibition by an IGFBP-3. *Exp Cell Res* 1992; 199: 229-33.
20. Liu L, Delbe J, Blat C, Zapf J, Harel L. Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-3), an inhibitor of serum growth factors other than IGF-I and-II. *J Cell Physiol* 1992; 153: 15-21.
21. Villaudy J, Blat C, Drop SLS, Golde A, Harel L. Difference in biological effects between insulin-like growth factor binding protein 1 and 3. *Growth Factors* 1994; 10: 107-14.
22. Oh Y, Muller 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; 268: 14961-71.
23. Cohen P, Lamson G, Okajima T, Rosenfeld RG. Transfection of the human insulin-like growth factor binding protein-3 gene into Balb/c fibroblasts inhibits cellular growth. *Mol Endocrinol* 1993; 7: 380-6.
24. Valentinis B, Bhala A, Deangelis T, Baserga 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.
25. Delbe JC, Villaudy J, Blat C, Desauty G, Harel L. Presence of IDF45 (mlGFBP-3) binding sites on chick embryo fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 495-501.
26. Oh Y, Muller IL, Pham 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.
27. Binoux M, Lalou C, Lassarre C, Segovia B. Regulation of IGF bioavailability by IGFBP proteases. In: Baxter RC, Gluckman PD, Rosenfeld RG, eds. *The insulin-like growth factors and their regulatory proteins. Proceedings of the 3rd international symposium on IGFs*. Amsterdam: Elsevier, 1994: 217-26.
28. Oh Y, Muller L, Ng L, Rosenfeld RG. Transforming growth factor-beta 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: 13589-2.
29. Burkbinder L, Talbott R, Velasea Miguel S, et al. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein 3 by p53. *Nature* 1995; 377: 646-9.
30. Harel L. Growth factors. In: Baserga R, ed. *Handbook of experimental pharmacology*. Heidelberg: Springer Verlag, 1981; 57: 313-41.
31. Martin J, Baxter R. Insulin-like growth factor binding protein-3: biochemistry and physiology. *Growth Regul* 1992; 2: 88-99.
32. Liu L, Blat C, Harel L. Synthesis and secretion by mouse 3T3 cells of an inhibitor of cell growth (mlGFBP-3): correlation with cell proliferation. *Biol Cell* 1992; 76: 125-30.
33. Blat C, Villaudy J, Harel L. Density dependent inhibition of mouse embryo fibroblasts growth: involvement of IGFBP-3. *Exp Cell Res* 1994; 215: 114-8.
34. Blat C, Villaudy J, Rouillard D, Golde A, Harel L. Modulation by the src oncogene of the effect of inhibitory diffusible factor (IDF45). *J Cell Physiol* 1987; 130: 416-9.
35. Angelloz-Nicoud P, Binoux M. Autocrine regulation of cell proliferation by the IGF and IGF binding protein-3 proteases system in a human prostate carcinoma cell line (PC-3). *Endocrinology* 1996 (sous presse).