

Le neuropeptide bombésine module la prolifération et l'invasion tumorale

Jean-Christophe Saurin
Éric Némoz-Gaillard
Christelle Ratineau
Jean-Alain Chayvialle
Jacques Abello

La bombésine est un peptide neuroendocrine de 14 acides aminés découvert à l'origine chez les amphibiens. Chez les mammifères, la protéine équivalente, le GRP (*gastrin-releasing peptide*), est exprimée dans de nombreux tissus, parmi lesquels le système nerveux central et le tube digestif. Plusieurs travaux récents ont mis en évidence des effets biologiques originaux de ce peptide sur différentes lignées cellulaires tumorales et non tumorales : stimulation de la prolifération, de la migration et de l'invasion à travers une matrice cellulaire synthétique, modifications de la morphologie cellulaire et du cytosquelette d'actine. Ces effets biologiques sont parmi les principaux mécanismes capables de promouvoir la formation de métastases par des cellules cancéreuses. Or le GRP et/ou son récepteur sont exprimés avec une fréquence remarquable par différentes tumeurs primaires humaines, ce qui laisse supposer un rôle spécifique de ce peptide dans le processus de cancérogenèse humaine. L'étude des mécanismes intracellulaires responsables de l'effet pro-invasif du GRP *in vitro* est une voie de recherche stimulante qui pourrait permettre d'analyser la coordination des différentes voies métaboliques impliquées dans l'acquisition d'un phénotype invasif par les cellules tumorales.

ADRESSES

J.C. Saurin, J.A. Chayvialle, J. Abello : Inserm U. 45, Système neuroendocrine et épithélium normal et néoplasique, IFR 62, Hôpital Édouard-Herriot, Pavillon Hbis, 69437 Lyon Cedex 3, France. E. Némoz-Gaillard : Department of Cell Biology, Baylor College of Medicine, 77030 Houston, TX, États-Unis. C. Ratineau : Division of Gastroenterology, New England Medical Center, 2111 Boston, MA, États-Unis.

Les tumeurs épithéliales humaines expriment fréquemment les gènes codant pour des peptides neuroendocrines et/ou leurs récepteurs. Cette expression peut être ectopique, si elle est spécifique du tissu tumoral, ou correspondre à une surexpression dans le tissu tumoral par rapport au tissu normal. *In vivo*, la signification de la présence de peptides neuroendocrines et de leurs récepteurs dans des tissus tumoraux est cependant difficile à évaluer sur

le plan diagnostique et pronostique, en raison de la variabilité inhérente aux études réalisées avec des tumeurs primaires. Dans des conditions mieux définies, les études *in vitro* montrent que plusieurs peptides digestifs tels que la gastrine, la neurotensine, la somatostatine et la bombésine sont capables de modifier la prolifération de cellules tumorales. Cependant, le rythme de division cellulaire n'est qu'un des multiples mécanismes qui contribuent au phénotype tumoral, parallèlement aux phénomènes d'apoptose, d'adhérence à la matrice extracellulaire, de motilité et d'invasion. Le but de cette revue est de souligner la complexité des effets de la bombésine dans les mécanismes de cancérogénèse.

La bombésine et ses récepteurs

La bombésine est un peptide neuroendocrine de 14 acides aminés isolé chez les amphibiens [1]. L'équivalent de la bombésine chez les mammifères est le *gastrin-releasing peptide* (GRP) dont le décapeptide carboxy-terminal (neuromédine C) présente une analogie presque complète avec la bombésine (Tableau I). Un proche parent, la neuromédine B, est présent au niveau de la moelle épinière. Le GRP est présent dans la paroi du tube digestif des mammifères, en particulier au niveau du côlon et de l'estomac, et dans le système nerveux central. Diverses études ont montré que le GRP exerce des effets variés chez l'homme et chez l'animal: il peut régler la satiété, la thermorégulation, les sécrétions endocrines digestives (gastrine, cholécystokinine, entéroglucagon), la sécrétion exo-

crine pancréatique, et la motricité digestive. Il existe quatre classes de récepteurs reconnaissant les peptides de la famille de la bombésine: récepteurs bombésine/GRP (BBS/GRP) (*m/s* 1998, n° 2, p. 223), neuromédine B (NMB), BRS-3 et BB4. Ils appartiennent à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires, couplés aux protéines G hétérotrimériques, essentiellement du type $G_{\alpha q/11}$ [2]. Parmi ces quatre classes, le récepteur BBS/GRP a été le plus étudié car il possède la distribution somatique la plus large, et semble impliqué dans la grande majorité des effets physiologiques du GRP (et de la bombésine souvent utilisée comme substitut). L'affinité de liaison entre la bombésine et son récepteur spécifique est élevée et comparable avec celle du GRP. Cette liaison conduit à l'activation de multiples voies de signalisation intracellulaires, qui ont pu être identifiées grâce à différents modèles cellulaires *in vitro*: activation des phospholipases C β , D et A2, augmentation de la concentration du calcium intracellulaire ionisé, activation de la protéine kinase C, phosphorylation de diverses protéines dont les MAP (*mitogen-activated protein*) kinases p42^{MAPK} et p44^{MAPK}, encore appelées respectivement ERK2 et ERK1, et plusieurs protéines des plaques d'adhérence focale [3] (figure 1).

Expression du récepteur bombésine/GRP et de son ligand dans le tissu tumoral

De façon générale, l'expression du récepteur BBS/GRP par les lignées cellulaires tumorales est remarquable

tant par la diversité des types cellulaires concernés (cancer du poumon à petites cellules, adénocarcinome exocrine du pancréas, du sein ou du côlon, gliome, sarcome d'Ewing) que par la fréquence élevée de cette expression (25 % des lignées sarcomateuses de type Ewing, 30 % des lignées d'adénocarcinome colique, 85 % des lignées de glioblastome et 100 % des lignées de cancer pulmonaire à petites cellules possèdent des récepteurs BBS/GRP) [4-7]. Ce profil d'expression relativement large est retrouvé dans les tumeurs primaires humaines. Dans le pancréas, le poumon et la prostate, la présence du récepteur BBS/GRP est détectée à la fois dans l'épithélium tumoral et non tumoral. Dans les adénocarcinomes coliques en revanche, l'expression du récepteur BBS/GRP est spécifique de l'épithélium tumoral. En effet, l'ARNm du récepteur BBS/GRP est absent des cellules épithéliales coliques normales, alors qu'il est détecté dans 90 % des tumeurs colorectales. Lorsque des tests de liaison de ligand, moins sensibles que la technique de RT-PCR, sont utilisés, le récepteur BBS/GRP est détecté au niveau de préparations de membranes plasmiques dans 20 % à 40 % des tumeurs coliques natives et dans 30 % des lignées tumorales coliques testées [8, 9].

Chez les mammifères, le mode d'action *in vivo* du GRP repose sur la libération du peptide par des fibres nerveuses, à proximité des effecteurs. Dans les tumeurs et les lignées tumorales, plusieurs modes d'activation du récepteur peuvent intervenir. En premier lieu, l'activation autocrine du récepteur a été mise en évidence dans le cas des lignées de cancer pul-

Tableau I

SÉQUENCES PRIMAIRES DU GRP 1-27 HUMAIN, DU GRP 18-27 (NEUROMÉDINE C), DE LA BOMBÉSINE ET DE LA NEUROMÉDINE B

GRP 1-27 :	Val-Pro-Val-Ser-Val-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Ala-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-CONH ₂
GRP 18-27 :	Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-CONH ₂
Bombésine :	pGlu-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-CONH ₂
Neuromédine B :	Gly-Asn-Leu-Trp-Ala-Thr-Gly-His-Phe-Met-CONH ₂

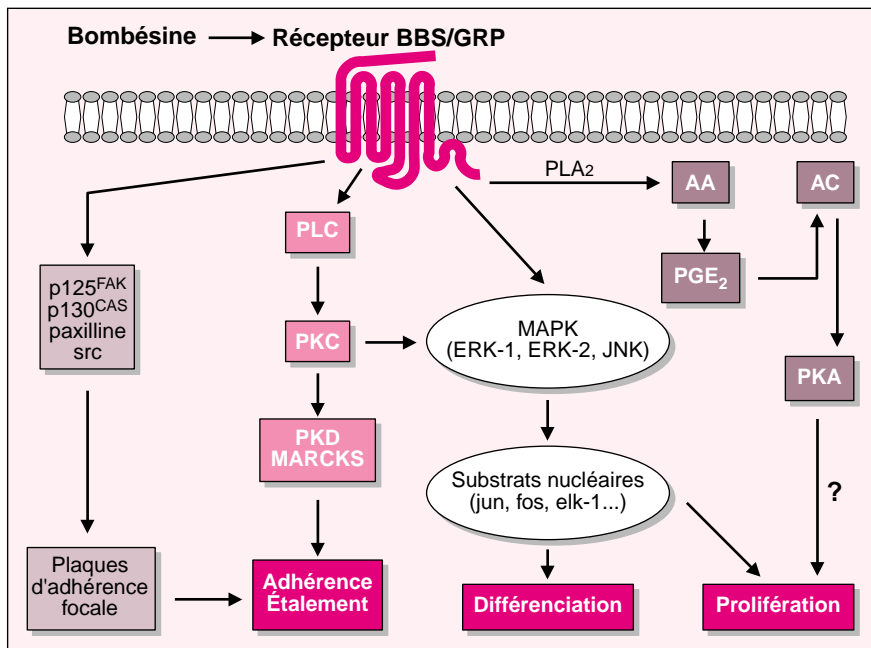


Figure 1. **Schéma des principales voies de transduction cellulaire du signal bombésine.** On peut noter la diversité des circuits intracellulaires impliqués aboutissant à l'activation de substrats nucléaires (par la voie des MAP kinases) et membranaires (PKC, MARCKS, p125^{FAK}). BBS: bombésine; GRP: gastrin-releasing peptide; PLC et PLA₂: phospholipases C et A₂; PKA et PKC: protéines kinases A et C; MAPK: mitogen-activated protein kinases; ERK: extracellular signal-regulated kinase; JNK: c-jun amino-terminal kinase; FAK: focal adhesion kinase; MARCKS: myristoylated alanine-rich C-kinase substrate; AC: adényl cyclase; AA: acide arachidonique; PGE₂: prostaglandine E₂.

monaire à petites cellules, et suggérée pour les lignées cancéreuses pancréatiques et sarcomateuses, qui expriment les récepteurs BBS/GRP et sont capables de synthétiser le GRP. L'activation paracrine du récepteur est possible dans le cas de tumeurs humaines prostatiques et mammaires: *in vitro*, les cellules tumorales possèdent des récepteurs BBS/GRP mais ne synthétisent pas le GRP de façon détectable; *in vivo*, le récepteur BBS/GRP est présent au niveau des cellules tumorales et le peptide est détecté dans les extraits tumoraux, sans que l'on connaisse la source de l'expression endogène du peptide. Enfin, un troisième mécanisme d'activation du récepteur BBS/GRP a été récemment décrit dans la lignée colique normale NCM 460 transfectée avec l'ADNc codant pour le récepteur BBS/GRP [10]. Dans ces cellules, le récepteur transfecté est activé de façon constitutive par stabilisation de la sous-unité α de la protéine G couplée au

récepteur sous sa forme liée au GTP. Cette activation de type «tonique» aboutit à une augmentation de l'activité de la phospholipase C et entraîne une prolifération des cellules en milieu sans sérum. La question posée à ce stade est de savoir si cette activation constitutive du récepteur BBS/GRP représente une caractéristique endogène de certaines cellules tumorales, ou n'est que le résultat de l'expression ectopique du récepteur dans la lignée NCM 460. A ce jour, l'activation constitutive du récepteur BBS/GRP natif n'a pas été rapportée au niveau de cellules tumorales.

Prolifération

En ce qui concerne l'effet prolifératif induit par la liaison au récepteur BBS/GRP et de la signalisation sous-jacente, le modèle de référence est celui des fibroblastes murins Swiss 3T3 non transformés, car ils possèdent un nombre élevé de récepteurs

(30 à 100 × 10³/cellule, selon le clone considéré). Dans ce modèle, la bombésine est un puissant stimulateur de la prolifération et de la synthèse d'ADN [11]. L'activation de la protéine kinase C joue un rôle important dans cet effet prolifératif, et l'activation de la voie de transduction des MAPK, dépendante de la protéine kinase C, fait probablement partie de la cascade aboutissant à cette stimulation de la prolifération [12]. D'autres voies intracellulaires de signalisation, *a priori* indépendantes de cette cascade principale, interviennent probablement dans l'effet prolifératif observé: c'est le cas, en particulier, de la phospholipase A₂ et de l'AMPc (figure 1).

Si l'on considère les lignées tumorales exprimant des récepteurs BBS/GRP fonctionnels, l'effet prolifératif de la bombésine est retrouvé dans la majorité des cas: lignées d'origine mammaire, prostatique, pancréatique, de cancer pulmonaire à petites cellules, de glioblastome [6, 13, 14]. Les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans ce processus n'ont été que peu ou pas étudiées. Seule une phosphorylation des MAPK ERK1 et ERK2 en présence de bombésine a été rapportée dans une lignée de glioblastome humain (U-373MG), en relation avec une augmentation de la prolifération cellulaire [6]. Le lien entre cette phosphorylation et la prolifération induite par la bombésine n'a cependant pas été démontré de manière directe.

In vivo, la bombésine et certains antagonistes spécifiques du peptide modulent la prolifération de xéno-greffes chez l'animal immunodéprimé, ou dans le cas de tumeurs chimio-induites chez l'animal [15, 16]. L'équipe de Schally s'est attachée à développer un modèle de xéno-greffes chez la souris athymique, à partir de différentes lignées épithéliales tumorales. Dans ce modèle, un antagoniste spécifique du GRP, le RC-3095, réduit l'index de prolifération cellulaire des xéno-greffes, diminue le volume tumoral final, et contrôle négativement le nombre de sites de liaison de l'*epidermal growth factor* (EGF) au niveau des membranes plasmiques des cellules tumorales [17]. Dans les tumeurs humaines en revanche, la démonstra-

tion d'une modification de la prolifération des cellules tumorales par la bombésine reste à faire. Dans un travail récent, le niveau d'expression de l'ARNm du récepteur BBS/GRP, quantifié par RT-PCR compétitive, et l'index de prolifération des tumeurs colorectales humaines n'ont pas pu être corrélés [9].

Apoptose et croissance sans adhérence

Les voies intracellulaires de transmission du signal bombésine recourent certaines voies métaboliques impliquées à la fois dans l'adhérence cellulaire, et dans les mécanismes d'apoptose, puisque l'absence d'adhérence à la matrice extracellulaire induit la mort cellulaire des cellules non transformées. Dans cette situation, l'apoptose est consécutive à la non-activation de plusieurs protéines de transduction, parmi lesquelles les kinases p125^{FAK} et src, la protéine kinase C et la GTPase Rho [18-20]. Dans les cellules tumorales, ces protéines sont le plus souvent activées de manière constitutive, ce qui permet une survie indépendante de l'adhérence (en particulier pour les fibroblastes transformés par l'oncogène v-src) [20-23]. Puisque la bombésine active ces mêmes médiateurs (p125^{FAK}, src, protéine kinase C, Rho) dans plusieurs modèles cellulaires, l'occupation du récepteur BBS/GRP dans les cellules tumorales, ou son activation constitutive, pourraient favoriser la croissance indépendante de l'adhérence, en mimant le spectre d'activation par adhérence à la matrice extracellulaire. Un tel effet reste actuellement hypothétique, car la bombésine et l'activation de son récepteur n'ont pas d'effet transformant clairement démontré. Néanmoins, la transfection du récepteur BBS/GRP dans des cellules coliques non tumorales permet leur prolifération en milieu sans sérum [9], et la bombésine stimule la croissance en agar mou des cellules tumorales pulmonaires [13].

Morphologie, motilité, invasion

L'une des composantes essentielles du caractère agressif des cellules tumorales, outre leur propriété de

prolifération excessive, repose sur leur capacité de migrer et d'envahir les tissus péri-tumoraux. L'étude de la modulation du pouvoir d'invasion et de migration des cellules tumorales par la bombésine est une voie de recherche actuellement très active.

Invasion et migration *in vitro*

In vitro, la bombésine exerce un effet chimotactique vis-à-vis de cellules tumorales (cancer pulmonaire à petites cellules, prostate) ou non tumorales (leucocytes) exprimant les récepteurs BBS/GRP [24]. Dans le cas des cellules tumorales prostatiques, la bombésine accélère aussi leur invasion d'un gel de collagène (Matrigel) dans le modèle des chambres de Boyden [25]. Cette stimulation du potentiel invasif des cellules tumorales s'explique en partie par l'activation de plusieurs systèmes de protéolyse cellulaire. Le premier système concerne l'activateur du plasminogène de type urokinase (uPA) : cette enzyme protéolytique, après fixation à la membrane cellulaire sur un récepteur spécifique, est capable d'activer le plasminogène en plasmine. La plasmine, protéase capable de dégrader la membrane basale, agit alors par protéolyse pour activer d'autres systèmes enzymatiques tels que les métalloprotéinases. *In vitro*, dans les cellules d'adénocarcinome prostatique, la bombésine augmente à la fois la sécrétion et l'activité enzymatique membranaire de l'uPA [26]. Le deuxième système concerné est celui des métalloprotéinases matricielles, enzymes protéolytiques capables de dégrader la matrice extracellulaire et impliquées dans le potentiel invasif de nombreuses cellules tumorales. La bombésine augmente la transcription et la sécrétion de la métalloprotéinase 9 (MMP9, ou collagénase de type IV), dont la cible est un composant important de la membrane basale, le collagène IV [27]. Il faut noter que ce dernier effet n'est pas une spécificité de la bombésine : d'autres peptides (neurotensine, neuromédine N, calcitonine) augmentent la sécrétion de MMP9 par les cellules de cancer prostatique. Il est d'ailleurs intéressant d'observer que des voies de signalisation intracellulaires princi-

pales différentes (AMP cyclique pour la calcitonine, phospholipase C et protéine kinase C pour la bombésine par exemple) aboutissent à l'activation de systèmes protéolytiques identiques.

Parallèlement à la stimulation de la protéolyse, l'augmentation de la motilité (migration) et du potentiel invasif (invasion du matrigel) des cellules tumorales en présence de bombésine coïncide avec d'importantes modifications du cytosquelette et de la morphologie cellulaire (figure 2). Dans le modèle des fibroblastes de souris Swiss 3T3, la bombésine induit la formation rapide et intense de fibres de stress, et l'apparition de protrusions membranaires (« *membrane ruffling* »). Ces modifications morphologiques sont respectivement sous le contrôle des GTPases RhoA et Rac1, protéines G monomériques de la famille Rho, points de contrôle essentiels du réseau d'actine et de la morphologie des cellules [28, 29]. Ainsi, l'expression d'une protéine Rac1 constitutivement active (Rac1 V12) induit la formation de lamellipodes dans de multiples modèles cellulaires, et est responsable d'une augmentation du caractère invasif de certaines cellules tumorales. Cet effet est également obtenu lors de la surexpression d'un activateur de Rac, la protéine Tiam1 [30]. Or Tiam1 est aussi activée par la bombésine dans les cellules Swiss 3T3. Parallèlement à ces modifications de la morphologie et du cytosquelette cellulaire, la bombésine stimule la formation des plaques d'adhésion focale (PAF). Situées au niveau des zones de contact entre la cellule et la matrice extracellulaire, ces plaques d'adhésion focale sont des complexes protéiques incluant des récepteurs membranaires de la matrice extracellulaire (tels que les intégrines), des protéines impliquées dans le contrôle de l'adhésion, de la migration et de l'invasion cellulaire (telles que les protéines p125^{FAK}, p130^{CAS} et src) et des protéines liant l'actine [31, 32]. Les protéine-kinases p125^{FAK} et src sont en particulier surexprimées dans les tumeurs primaires et les lignées cellulaires tumorales humaines, et cette augmentation d'expression est corrélée avec le potentiel métastatique des tumeurs [32, 33].

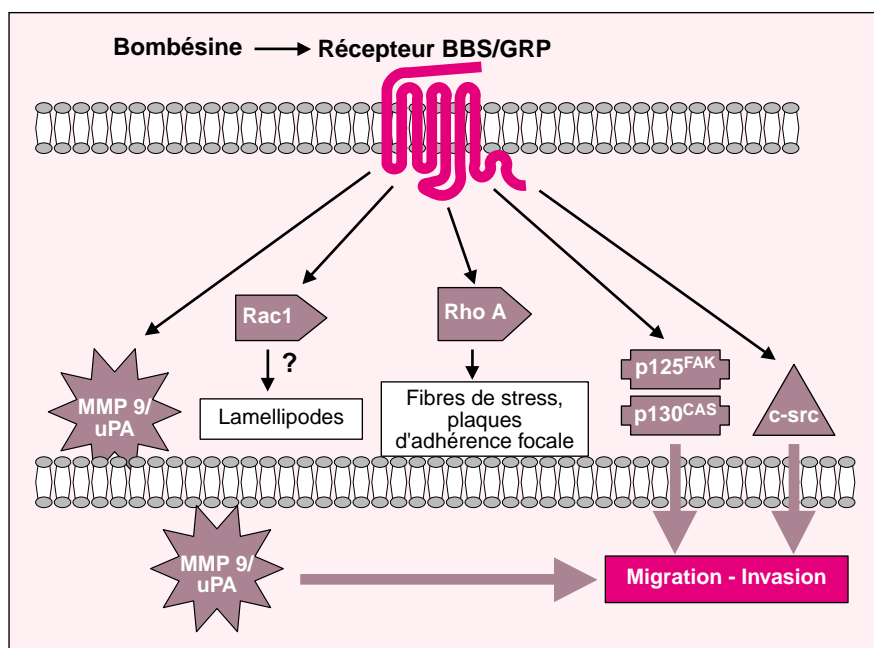


Figure 2. **Médiateurs cellulaires du signal relayé par la bombésine susceptibles de jouer un rôle au cours de l'invasion tumorale.** Les modifications du cytosquelette d'actine impliquant la protéine G monomérique Rho et la protéine kinase p125^{FAK} ont été largement étudiées dans le modèle des fibroblastes Swiss 3T3. La phosphorylation de src, dont l'expression est corrélée avec le potentiel invasif des tumeurs coliques primaires humaines, et l'augmentation de la sécrétion de métalloprotéinases par la bombésine reposent sur des voies métaboliques distinctes encore inconnues. La GTPase Rac1 est un modulateur de la morphologie cellulaire (induisant la formation de prolongements membranaires appelés lamellipodes ou invadopodes) qui soutient le potentiel invasif de plusieurs lignées tumorales.

Dans le cas des cellules tumorales, peu d'exemples de modification de la morphologie en présence de bombésine ont été rapportés à ce jour. En ce qui concerne les cellules d'adénocarcinome colique exprimant les récepteurs BBS/GRP, la bombésine induit la formation de protrusions membranaires de type lamellipodes et filopodes [33] (figure 3). Dans la plupart des modèles cellulaires testés, l'apparition de ces lamellipodes (appelés aussi « invadopodes ») est associée à une augmentation du potentiel invasif des cellules tumorales, et est favorisée par plusieurs conditions : incubation des cellules en présence de facteurs de croissance comme l'EGF ou l'insuline, transfection de dominants positifs de la protéine Rac1, ou transfection de la protéine Tiam1 activant Rac1. En résumé, les données actuelles démontrent un effet de la bombésine sur le potentiel de migration et d'invasion de certaines cellules tumorales, et

les mécanismes impliqués directement ou indirectement dans cet effet, parmi lesquels le contrôle de la morphologie cellulaire et de la protéolyse péricellulaire, ont pu être déterminés.

Invasion *in vivo*

Plusieurs arguments sont en faveur d'un rôle de la bombésine dans l'invasion tumorale *in vivo*. Chez la souris, la bombésine injectée par voie sous-cutanée augmente fortement l'incidence des métastases péritonéales de tumeurs colorectales chimio-induites par l'azoxyméthane [16]. Cette augmentation de l'invasion péritonéale en présence de bombésine est inhibée par l'amiloride, un inhibiteur de l'activateur du plasminogène [35]. Chez l'homme, le récepteur BBS/GRP est exprimé en particulier dans les tumeurs pulmonaires à petites cellules, prostatiques et colorectales. Or les cancers pulmonaires à petites cellules, dans lesquelles les récepteurs

BBS/GRP sont le plus souvent activés de manière autocrine, sont des tumeurs humaines à potentiel métastatique élevé. Dans le cas des adénocarcinomes prostatiques, la mise en évidence d'une différenciation endocrine est un critère important dans l'établissement d'un pronostic péjoratif [36]. Cependant, si le GRP fait partie des neuropeptides les plus souvent détectés en immunohistochimie dans ces tumeurs, ni l'expression du récepteur BBS/GRP, ni celle du peptide n'ont encore été directement corrélées avec le potentiel métastatique des tumeurs. En ce qui concerne les tumeurs colorectales humaines, des taux élevés d'ARNm codant pour le récepteur BBS/GRP caractérisent un groupe de tumeurs présentant une invasion des lymphatiques péri-tumoraux [9]. Ce type d'invasion locale ou régionale n'est pas sans rappeler l'augmentation de l'invasion péritonéale des cancers colorectaux induits chez le rat lorsque ces animaux reçoivent de la bombésine. Compte tenu de la difficulté des études sur tumeurs primaires, l'établissement d'un modèle *in vivo*, par surexpression ou inactivation du gène du récepteur BBS/GRP, permettrait de démontrer son importance dans le potentiel invasif ou métastatique d'une lignée tumorale humaine.

Conclusions et perspectives

Les peptides neuroendocrines dont les récepteurs sont exprimés par des cellules tumorales humaines ont surtout été étudiés pour leurs effets stimulants ou inhibiteurs de la prolifération cellulaire. Des données récentes apportent un éclairage nouveau sur le rôle potentiel d'un tel peptide, la bombésine, dans le contrôle de multiples phénomènes biologiques intervenant de part et d'autre de la membrane cellulaire (morphologie, cytosquelette, protéolyse péricellulaire) et impliqués dans la migration des cellules tumorales et dans leur capacité d'invasion du tissu environnant. De tels effets biologiques contribuent pour une large part au caractère agressif de tumeurs comme les cancers colorectaux, dont le pronostic repose davantage sur la détermination du potentiel invasif et métastatique des cellules que sur leur degré de prolifération. L'étude des effets biolo-

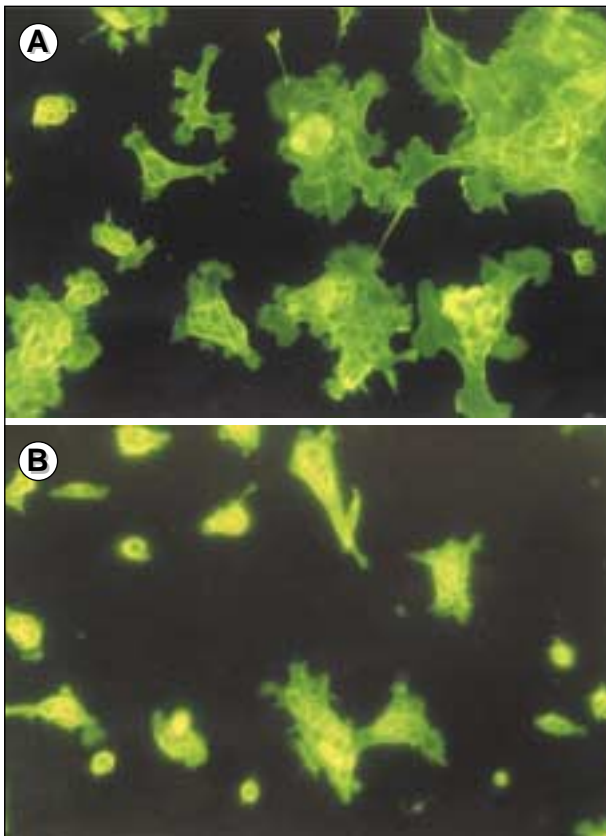


Figure 3. Modification de la morphologie des cellules cancéreuses coliques Isreco1 en présence de bombésine. Les cellules cultivées pendant 48 heures en milieu sans sérum et en présence de 100 nM de bombésine (A), présentent de nombreux prolongements membranaires (lamellipodes). Ces modifications ne sont pas ou peu observées chez les cellules contrôles (B). Les cellules sont fixées après 48 heures puis incubées en présence de phalloïdine fluorescente permettant de visualiser le cytosquelette d'actine [35]. Grossissement: x 200.

giques des neuropeptides et l'analyse des voies de signalisation cellulaire responsables de ces effets pourraient permettre une meilleure compréhension du fonctionnement coordonné des mécanismes d'invasion tumorale, et déboucher ainsi sur des approches thérapeutiques originales dans le cas de cancers métastatiques ou ayant un risque de dissémination élevé ■

Remerciements

Nous remercions C. Bernard, C. Roche et M. Cordier-Bussat pour leurs commentaires sur ce manuscrit. Nos travaux ont été partiellement subventionnés par la Ligue Nationale pour la Recherche contre le Cancer, Comité départemental du Rhône.

RÉFÉRENCES

1. Bunnett N. Gastrin-Releasing Peptide. In Walsh JH, Dockray GJ, eds. *Gut Peptides: Biochemistry and Physiology*. New York, Raven Press, 1994: 423-45.
2. Kroog GS, Sainz E, Worland PJ, et al. The gastrin-releasing peptide receptor is rapidly phosphorylated by a kinase other than protein kinase C after exposure to agonist. *J Biol Chem* 1995; 270: 8217-24.

3. Heslop JP, Blakeley DM, Brown KD, Irvine RF, Berridge MJ. Effects of bombesin and insulin on inositol (1,4,5)trisphosphate and inositol (1,3,4)trisphosphate formation in Swiss 3T3 cells. *Cell* 1986; 47: 703-9.
4. Frucht H, Gazdar AF, Park JA, Oie H, Jensen RT. Characterization of functional receptors for gastrointestinal hormones on human colon cancer cells. *Cancer Res* 1992; 52: 1114-22.
5. Lawlor ER, Lim JF, Tao W, et al. The Ewing tumor family of peripheral primitive neuroectodermal tumors expresses human gastrin-releasing peptide. *Cancer Res* 1998; 58: 2469-76.
6. Sharif TR, Luo W, Sharif M. Functional expression of bombesin receptor in most adult and pediatric human glioblastoma cell lines; role in mitogenesis and in stimulating the mitogen-activated protein kinase pathway. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 130: 119-30.
7. Moody TW, Bertness V, Carney DN. Bombesin-like peptides and receptors in human tumor cell lines. *Peptides* 1983; 4: 683-6.
8. Preston SR, Woodhouse LF, Jones-Blackett S, Miller GV, Primrose JN. High-affinity binding sites for gastrin-releasing peptide on human colorectal cancer tissue but not uninvolved mucosa. *Br J Cancer* 1995; 71: 1087-9.
9. Saurin JC, Rouault JP, Abello J, Berger F, Remy L, Chayvialle JA. High gastrin releasing peptide receptor mRNA level is related

to tumour dedifferentiation and lymphatic vessel invasion in human colon cancer. *Eur J Cancer* 1999; 35: 125-32.

10. Ferris HA, Carroll RE, Rasenick MM, Benya RV. Constitutive activation of the gastrin-releasing peptide receptor expressed by the nonmalignant human colon epithelial cell line NCM460. *J Clin Invest* 1997; 100: 2530-7.
11. Rozengurt E, Sinnott-Smith J. Bombesin stimulation of DNA synthesis and cell division in cultures of Swiss 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 2936-40.
12. Seufferlein T, Withers DJ, Rozengurt E. Reduced requirement of mitogen-activated protein kinase (MAPK) activity for entry into the S phase of the cell cycle in Swiss 3T3 fibroblasts stimulated by bombesin and insulin. *J Biol Chem* 1996; 271: 21471-7.
13. Nelson J, Donnelly M, Walker B, Gray J, Shaw C, Murphy RF. Bombesin stimulates proliferation of human breast cancer cells in culture. *Br J Cancer* 1991; 63: 933-6.
14. Cuttitta F, Carney DN, Mulshine J, et al. Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small cell lung cancer. *Nature* 1985; 316: 823-6.
15. Qin Y, Ertl T, Cai RZ, Halmos G, Schally AV. Inhibitory effect of bombesin receptor antagonist RC-3095 on the growth of human pancreatic cancer cells *in vivo* and *in vitro*. *Cancer Res* 1994; 54: 1035-41.
16. Iishi H, Tatsuta M, Baba M, Yamamoto R, Taniguchi H. Enhancement by bombesin of colon carcinogenesis and metastasis induced by azoxymethane in Wistar rats. *Int J Cancer* 1992; 50: 834-9.
17. Yano T, Pinski J, Szepeshazi K, et al. Inhibitory effect of bombesin/gastrin-releasing peptide antagonist RC-3095 and luteinizing hormone-releasing hormone antagonist SB-75 on the growth of MCF-7 MII human breast cancer xenografts in athymic nude mice. *Cancer* 1994; 73: 1229-38.
18. Defilippi P, Venturino M, Gulino D, et al. Dissection of pathways implicated in integrin-mediated actin cytoskeleton assembly. Involvement of protein kinase C, Rho GTPase, and tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997; 272: 21726-34.
19. Casamassima A, Rozengurt E. Tyrosine phosphorylation of p130(cas) by bombesin, lysophosphatidic acid, phorbol esters, and platelet-derived growth factor. Signaling pathways and formation of a p130(cas)-Crk complex. *J Biol Chem* 1997; 272: 9363-70.
20. Rodriguez-Fernandez JL, Rozengurt E. Bombesin, bradykinin, vasopressin, and phorbol esters rapidly and transiently activate Src family tyrosine kinases in Swiss 3T3 cells. Dissociation from tyrosine phosphorylation of p125 focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 1996; 271: 27895-901.
21. Ruoslahti E, Reed JC. Anchorage dependence, integrins, and apoptosis. *Cell* 1994; 77: 477-8.
22. Guan JL, Shalloway D. Regulation of focal adhesion-associated protein tyrosine kinase by both cellular adhesion and oncogenic transformation. *Nature* 1992; 358: 690-2.

RÉFÉRENCES

23. Rodriguez-Fernandez JL, Rozenfurt E. Bombesin, vasopressin, lysophosphatidic acid, and sphingosylphosphorylcholine induce focal adhesion kinase activation in intact Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 19321-8.
24. Ruff M, Schiffmann E, Terranova V, Pert CB. Neuropeptides are chemoattractants for human tumor cells and monocytes: a possible mechanism for metastasis. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 37: 387-96.
25. Aprikian AG, Tremblay L, Han K, Chevalier S. Bombesin stimulates the motility of human prostate carcinoma cells through tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase and of integrin-associated proteins. *Int J Cancer* 1997; 72: 498-504.
26. Festuccia C, Guerra F, D'Ascenzo S, Giunciuglio D, Albin A, Bologna M. *In vitro* regulation of pericellular proteolysis in prostatic tumor cells treated with bombesin. *Int J Cancer* 1998; 75: 418-31.
27. Sehgal I, Thompson TC. Neuropeptides induce Mr 92,000 type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human prostate cancer cell lines. *Cancer Res* 1998; 58: 4288-91.
28. Ridley AJ, Hall A. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992; 70: 389-99.
29. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992; 70: 401-10.
30. Michiels F, Habets GG, Stam JC, van der Kammen RA, Collard JG. A role for Rac in Tiam1-induced membrane ruffling and invasion. *Nature* 1995; 375: 338-40.
31. Cary LA, Han DC, Polte TR, Hanks SK, Guan JL. Identification of p130Cas as a mediator of focal adhesion kinase-, Les Ulis, France-promoted cell migration. *J Cell Biol* 1998; 140: 211-21.
32. Mao W, Irby R, Coppola D, et al. Activation of c-Src by receptor tyrosine kinases in human colon cancer cells with high metastatic potential. *Oncogene* 1997; 15: 3083-90.
33. Weiner TM, Liu ET, Craven RJ, Cance WG. Expression of focal adhesion kinase gene and invasive cancer. *Lancet* 1993; 342: 1024-5.
34. Saurin JC, Nemoz-Gaillard E, Sordat B, et al. Bombesin stimulates adhesion, spreading, lamellipodia formation, and proliferation in the human colon carcinoma Isrecol cell line. *Cancer Res* 1999; 59: 962-7.
35. Iishi H, Tatsuta M, Baba M, Yano H, Uehara H, Nakaizumi A. Suppression by amiloride of bombesin-enhanced peritoneal metastasis of intestinal adenocarcinomas induced by azoxymethane. *Int J Cancer* 1995; 63: 716-9.
36. Di Sant'Agnes PA. Neuroendocrine differentiation in carcinoma of the prostate. Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer* 1992; 70: 254-68.

Summary

The neuropeptide bombesin modifies the proliferative and invasive properties of tumor cells

The amphibian tetradecapeptide bombesin and its mammalian counterpart, the gastrin-releasing peptide (GRP), are neurotransmitters and paracrine hormones. GRP is expressed mainly in nerve fibers throughout the mammalian gut and in the central nervous system. A variety of native human tumors express the bombesin/GRP receptor, suggesting that the peptide may also play a significant role *in vivo* in carcinogenesis. Several recent studies have demonstrated that GRP and bombesin could stimulate cell proliferation, migration and invasion, and induce morphological changes associated with cytoskeleton reorganization in cell lines of different origin. All these effects are part of the metastatic process leading to the dissemination of tumor cells. Interestingly, the interaction of bombesin with its receptor activates several intracellular pathways in cell lines, including proliferation pathways (protein kinase C, MAP kinases), kinases located at the cell membrane and involved in migration and adhesion (p125^{FAK}), and the small G proteins (Rho, Rac, Cdc42) which control the cell morphology and the actin cytoskeleton. By understanding the intracellular pathways responsible for the pro-invasive effects of bombesin on tumor cells *in vitro*, it may be possible to identify new mechanisms leading to tumor cell dissemination, and by extension new targets for anti-tumoral therapy.

TIRÉS À PART

J.C. Saurin.