

## Éditorial

## Métalloprotéases matricielles : infidélités à la matrice extracellulaire

Brigitte Lelongt, Pierre Ronco, Rémi Piedagnel

> Le développement des organismes multicellulaires dépend de la synthèse d'une matrice extracellulaire (MEC) qui facilite l'organisation des cellules en entités fonctionnelles beaucoup plus complexes, les tissus et les organes. Les MEC sont en renouvellement constant et subissent de profonds remaniements au cours de phénomènes biologiques ou pathologiques comme le développement embryonnaire, la cicatrisation, le cancer ou l'athérosclérose. La dégradation des molécules de la MEC est effectuée par des protéases spécialisées dont les principales sont les métalloprotéases matricielles (MMP). La première activité de type MMP a été décrite en 1962 dans une étude montrant qu'un fragment de queue de têtard en involution était capable de dégrader un gel constitué de collagène fibrillaire natif. Depuis, des MMP ont été mises en évidence dans un très grand nombre d'espèces, de l'algue verte jusqu'à l'homme. Actuellement, 25 MMP sont identifiées chez les vertébrés. Elles sont soumises à de nombreux processus de régulation, et leur activité est réglée par des inhibiteurs spécifiques, les TIMP (*tissue inhibitors of metalloprotease*).

De nombreuses études ont été entreprises pour caractériser les substrats matriciels des MMP ainsi que le rôle de ces enzymes dans les processus au cours desquels on observe un remodelage tissulaire. Chaque protéase cible des substrats qui lui sont propres, si bien que la famille des MMP est capable de dégrader tous les constituants des membranes basales et des MEC. Cependant, rares sont les substrats matriciels identifiés *in vivo*. En revanche, il est apparu, ces dernières années, que la fonction des MMP n'était pas restreinte *in vivo* et *in vitro* à la destruction de la MEC. Les MMP peuvent régler le comportement cellulaire de diverses manières qui font l'objet de cet éditorial, et qui expliquent leurs effets souvent inattendus en pathologie.

#### Contrôle du phénotype cellulaire ou remodelage de la matrice : à propos des dommages collatéraux

La dégradation de la MEC altère le micro-environnement cellulaire en modifiant sa composition et en libérant des facteurs de croissance. Les actions directes des MMP sur les MEC influencent le comportement cellulaire, *via* des molécules transmembranaires telles que les intégrines qui interagissent avec les constituants extracellulaires des

matrices et le cytosquelette. Les MMP peuvent ainsi participer à la migration et à la différenciation cellulaire, à l'apoptose ou stimuler d'autres voies intracellulaires de transduction des signaux. Le clivage des protéines de la MEC peut également engendrer des peptides biologiquement actifs. Le clivage de la laminine-5 par la MMP2 en est un exemple. Il engendre un fragment de la chaîne  $\gamma 2$  qui stimule la migration cellulaire.

Par ailleurs, les MEC constituent un réservoir de facteurs de croissance et peuvent cliver leurs protéines de transport. Par leurs actions protéolytiques sur les molécules matricielles, les MMP provoquent la libération de ces facteurs stockés dans la MEC et agissent, ainsi, sur le phénotype cellulaire. Cette activité protéolytique peut être très spécifique et conduire à la libération d'un seul facteur de croissance. Par exemple, la dégradation du perlécane par la MMP1 ou la MMP3 va entraîner la libération de FGF (*fibroblast growth factor*) tandis que le clivage d'un autre protéoglycane, la décorine, par les MMP-2, 3 ou 7 conduit à la libération de TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ).

#### Contrôle du phénotype cellulaire par interaction des MMP avec des récepteurs ou d'autres protéines membranaires : un prérequis pour des actions ciblées

Ces interactions conduisent à un ciblage très précis de certaines MMP vers des domaines particuliers de la surface cellulaire. Par exemple, la MMP2 peut se lier à l'intégrine  $\alpha v \beta 3$  à la surface des cellules endothéliales. Cette liaison se fait par la partie C-terminale de l'enzyme, permettant ainsi au domaine catalytique d'interagir avec son substrat. De même, l'EMMPRIN (*extracellular matrix metalloproteinase inducer*) se lie à la MMP1, synthétisée par les fibroblastes du stroma, et concentre l'activité de la protéase à la périphérie des cellules cancéreuses. La MMP9 se fixe sur le CD44, le récepteur membranaire de l'acide hyaluronique. La MMP9 ainsi localisée à la surface cellulaire stimule l'invasion tumorale. Le ciblage des MMP dans certaines régions de la surface cellulaire peut être aussi induit par une interaction des protéases avec leurs enzymes activatrices comme par exemple l'urokinase. Enfin, six MMP, les MT-MMP (*membrane type-MMPs*), possèdent un domaine transmembranaire et peuvent donc être localisées

dans un domaine particulier de la surface cellulaire où elles ont leurs propres substrats. De plus, elles activent et se lient à deux autres MMP secrétées, la MMP2 et la MMP13, ce qui permet également un ciblage de l'activité de ces protéases à la surface cellulaire. La concentration des MMP dans des domaines de la surface cellulaire est nécessaire à la migration polarisée des cellules.

### **Contrôle du phénotype cellulaire par clivage de substrats non matriciels : rôle direct des MMP dans la signalisation cellulaire**

Actuellement, les études s'orientent vers la recherche de substrats non matriciels pour les MMP dont le clivage peut avoir des effets très spécifiques dans la physiologie des cellules et des organes. Par exemple, les MMP sont capables de cliver les IGF-BP (*insulin-like growth factor-binding protein*) et donc d'augmenter la disponibilité de l'IGF. Les MMP agissent également directement sur les facteurs de croissance. La MMP2 et la MMP9 peuvent activer le pro-TGF $\beta$  et les MMP libèrent de la membrane cellulaire de l'HB-EGF (*heparin-binding epidermal growth factor*) actif. Ces actions ne se limitent pas aux facteurs de croissance. Les MMP agissent sur le pro-TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor  $\alpha$* ) lié à la membrane pour engendrer un TNF- $\alpha$  soluble et actif, et les MMP2, 3 et 9 transforment, par protéolyse partielle, le précurseur de l'interleukine-1 $\beta$  en molécule active. De même, la MMP7 clive le ligand Fas et induit le relargage d'une protéine soluble et active, contrôlant l'apoptose cellulaire. L'action protéolytique des MMP sur des substrats non matriciels peut s'effectuer dans le sens d'une inhibition d'activité. La MMP2 inactive la protéine de chimio-attraction des monocytes (MCP-3) et atténue ainsi la réponse inflammatoire. La chaîne  $\alpha$  du récepteur de l'interleukine-2 est clivée par la MMP9 à la surface des lymphocytes, ce qui diminue la prolifération des cellules en réponse à l'interleukine-2. Ce ne sont que quelques exemples et la liste des substrats non matriciels des MMP s'allonge régulièrement.

### **Rôle des MMP en pathologie infectieuse et inflammatoire : identification de nouveaux mécanismes d'action**

L'utilisation de souris génétiquement modifiées dans des modèles de pathologie a permis de révéler de nouveaux substrats des MMP.

L'étude de souris déficientes pour le gène de la MMP7 a montré que l'enzyme active le précurseur des  $\alpha$ -défensines dans les granules des cellules de Paneth de l'intestin grêle. Les  $\alpha$ -défensines sont des molécules antimicrobiennes produites sous forme de précurseurs inactifs par les granulocytes et certaines cellules épithéliales dont les cellules de Paneth. Les souris déficientes en MMP7, qui accumulent le précurseur inactif dans l'intestin grêle, sont beaucoup plus sensibles à une infection par une souche virulente de salmonelle, ce qui se traduit par une durée de vie raccourcie et une mortalité

beaucoup plus importante.

D'autres observations sont encore plus étonnantes car elles concernent des maladies déclenchées par une dégradation de la membrane basale, dans lesquelles on pouvait s'attendre à un effet protecteur de l'absence d'une MMP comme la MMP9, connue pour son action protéolytique sur le collagène de type IV et les collagènes dénaturés. De fait, d'autres substrats de cette enzyme, jusqu'alors inconnus, se sont révélés plus importants que la dégradation des collagènes dans la pathogénie de ces maladies.

Dans le modèle de la maladie pemphigoïde bulleuse, les souris déficientes en MMP9 sont capables, comme les souris témoins, de produire des auto-anticorps dirigés contre une protéine des hémidesmosomes, la BP 180 (collagène XVII). Ceux-ci se déposent sur la membrane basale mais la lésion bulleuse ne se forme pas. Le même effet protecteur est observé lorsque la maladie est induite chez les souris déficientes en une autre enzyme, l'élastase des neutrophiles, qui clive la protéine BP 180. Bien que les deux enzymes dégradent cette protéine *in vitro*, seule l'élastase des neutrophiles induit la formation de lésions bulleuses sur des sections de peau, et il est vraisemblable que le clivage de la BP 180 par la MMP9 ne joue qu'un rôle mineur *in vivo*. En fait, la MMP9 contribue indirectement à la formation des bulles en inactivant le principal inhibiteur endogène de l'élastase des neutrophiles, l'inhibiteur de la serpine  $\alpha$ 1-protéinase, permettant ainsi à l'élastase de cliver la protéine BP 180 (→).

De même, nous avons supposé que l'absence de MMP9 pourrait jouer un rôle protecteur dans un modèle de glomérulonéphrite induite par l'injection d'anticorps dirigés contre la membrane basale glomérulaire. A l'inverse des observations faites dans le modèle de pemphigoïde bulleuse, la fonction rénale des souris déficientes en MMP9 est diminuée par rapport à celle des souris témoins. Cela est lié à une plus grande sévérité des lésions glomérulaires caractérisées par des dépôts de fibrine. Nous avons montré que l'effet protecteur inattendu de la MMP9 était dû à l'activité fibrinolytique de cette enzyme, qui n'était pas connue auparavant.

### **Rôle des MMP en pathologie tumorale : une complexité croissante compliquant l'emploi thérapeutique des inhibiteurs**

L'expression des MMP est généralement augmentée dans et autour des tumeurs malignes alors qu'elle ne l'est pas dans les tumeurs bénignes ou de stades intermédiaires. Leur expression est particulièrement augmentée à l'interface tumeur-stroma où les processus d'invasion sont actifs. C'est pourquoi de nombreuses MMP ont été isolées et caractérisées à partir de lignées cellulaires ou de tissus provenant de tumeurs malignes. Cependant, dans les cancers épithéliaux, la plupart des MMP sont exprimées par les cellules stromales

(→) m/s  
2001, n°2,  
p. 260

et peu par les cellules tumorales. Ainsi, les MMP des cellules stromales adjacentes sont souvent induites et réquisitionnées par les cellules épithéliales malignes, et il existe une étroite corrélation entre le degré d'expression des MMP et le degré de malignité de la tumeur. Cependant, le rôle et le mode d'action des MMP dans les différentes étapes des processus tumoraux telles que l'établissement initial de la tumeur, l'angiogenèse et la formation de métastases, peuvent être différents.

Les MMP sont capables d'agir aux premières étapes de la progression tumorale en dégradant la MEC, mais aussi en réglant le relargage, l'activation et la biodisponibilité des facteurs de croissance ou d'autres molécules qui modifient les fonctions cellulaires, telles que la prolifération ou la survie. Les travaux utilisant des souris génétiquement modifiées confirment que les MMP interviennent lors de la formation des tumeurs. En général, les souris surexprimant une MMP développent spontanément des lésions hyperprolifératives et l'étude de modèles d'inactivation de gène montre que l'élimination d'un seul membre de la famille des MMP atténue la progression tumorale.

Les MMP ont été également impliquées dans l'angiogenèse tumorale. Leur mode d'action est alors largement indépendant de leur fonction de dégradation de la MEC. L'absence du gène de la MMP2 ou du gène de la MMP9 chez la souris réduit l'angiogenèse et la croissance tumorale, suggérant que ces deux enzymes jouent un rôle angiogénique, expliqué partiellement par la libération de VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Cependant, ces mêmes MMP peuvent produire des peptides anti-angiogéniques. Par exemple, l'angiostatine, un produit de dégradation du plasminogène, peut être engendré *in vitro* par les MMP2, 3, 7, 9 et 12. *In vivo*, les souris déficientes en intégrine  $\alpha 1$ , qui surexpriment la MMP9, ont une angiogenèse réduite en raison de taux élevés d'angiostatine. De même, la MMP2 peut réduire l'angiogenèse en clivant le récepteur 1 du FGF, libérant ainsi une protéine circulante qui module les puissants effets angiogéniques du FGF en réduisant sa biodisponibilité. Ainsi, les inhibiteurs des protéases peuvent avoir des effets inhibiteurs ou stimulants de l'angiogenèse tumorale en fonction de la sensibilité de la tumeur aux facteurs de croissance ou à l'angiostatine.

Le potentiel métastatique est corrélé à la capacité qu'ont les tumeurs à franchir de multiples barrières de matrices extracellulaires. On pouvait penser que les MMP facilitaient les processus d'invasion et de métastase. Cependant, à l'exception de la déficience en MMP2, qui est associée à un défaut de colonisation pulmonaire par des cellules cancéreuses injectées par voie intraveineuse, l'élimination d'une seule MMP ne suffit généralement pas à réduire l'invasion tumorale.

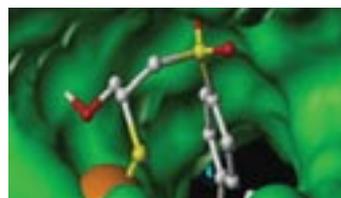
Le groupe de Zena Werb a même observé un effet paradoxal chez les souris déficientes en MMP9. Chez ces souris, le nombre de tumeurs de la peau induites par le virus HPV-16 (*human papilloma virus*) est réduit, alors que la capacité métastatique est fortement augmentée, en raison de modifications de la réponse immunitaire corrigées par une transplantation de moelle osseuse (→).

Les récents résultats décevants des essais cliniques avec des inhibiteurs synthétiques des MMP (→) sont probablement expliqués par la multiplicité des effets des MMP aux diverses étapes du processus tumoral.

### En conclusion

Nous devons élargir la conception simpliste selon laquelle les MMP sont des enzymes de dégradation de la MEC à une vision plus élaborée d'événements protéolytiques ciblant à la fois des substrats matriciels et non matriciels. Une meilleure identification des substrats des MMP *in vivo* et des effets biologiques de leurs produits de clivage est nécessaire pour optimiser l'utilisation des inhibiteurs synthétiques de ces enzymes dans le traitement et la prévention de maladies dont la physiopathologie est complexe. ♦

### The matrix metalloproteinases



B. Lelongt, P. Ronco, R. Piedagnel :  
 Inserm U.489, Hôpital Tenon,  
 4, rue de la Chine, 75970 Paris Cedex 20, France.

### POUR EN SAVOIR PLUS

- > Lelongt B, Legallier B, Piedagnel R, Ronco P. Do matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 (gelatinases) play a role in renal development, physiology and glomerular diseases? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001 ; 10 : 7-12.
- > McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Curr Opin Cell Biol* 2001 ; 13 : 534-40.

- > Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001 ; 17 : 463-516.
- > Vu TH, Werb Z. Gelatinase B : structure, regulation, and function. In : Parks WC, Mercham RP, eds. *Matrix metalloproteinases*. San Diego, USA : Academic Press, 1998 : 115-48.
- > Vu TH. Don't mess with the matrix. *Nat Genet* 2001 ; 28 : 202-3.

(→) m/s  
 2001, n°8-9,  
 p. 938

(→) m/s  
 2002, n°5,  
 p. 565